



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES
DE MEMBRANAS A BASE DE QUITOSANA CONTENDO
AGENTE ANTIFÚNGICO**

STÉFANI LAISE DA SILVA

Florianópolis, Fevereiro de 2019

Stéfani Laise da Silva

**ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES DE
MEMBRANAS A BASE DE QUITOSANA CONTENDO AGENTE
ANTIFÚNGICO**

Relatório apresentado ao Departamento de Química
da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito parcial da disciplina de
Estágio II (QMC 5512)

Prof. Dr. Alexandre Luis Parize

Adalberto Enumo Junior

Florianópolis, Fevereiro de 2019

Dedico este trabalho a meus pais
que se abdicaram de tudo para que
eu chegasse até aqui e aos meus
amados filhos que me deram tanta
força nesta caminhada...

Agradecimentos

Agradeço a Deus primeiramente e a Nossa Senhora Desatadora dos Nós a quem sou devota a muitos anos e a esta me apeguei em tantos momentos delicados em que tudo parecia estar perdido...

A minha mãe que lutou ao meu lado todos estes anos e ao meu querido pai que nunca deixou de acreditar em mim e nos meus próprios sonhos...

A minha irmã Camila em que tenho uma grande dívida, pois dela roubei muito do tempo de nossa mãe para que esta cuidasse e zelasse por meus filhos em todos os momentos que estive ausente dedicando todos meus esforços na busca de conhecimento e sabedoria.

A meus filhos Kauan, Luan e a Maria Cecília que foram aconchego para meu coração, serenidade a meus de pensamentos durante toda minha jornada na graduação e uma das maiores razões para não ter desistido de tudo.

A meus avós maternos José e Terezinha por ter me acolhido com carinho tantas vezes em sua casa, a meus padrinhos César e Salete que estiveram dispostos a me amparar em tudo que precisasse, a minha prima e afilhada Luana sempre presente e tentando me dar ânimo quando o fôlego faltava até mesmo no meu semblante..

A minha avó Cecília que acompanhou minha caminhada durante muito tempo sempre cuidando e se preocupando com meu bem estar...

A todos os familiares que me apoiaram e contribuíram de alguma forma para que eu concluísse minha jornada.

Ao Prof. Dr. Alexandre Luis Parize por nunca ter desistido de mim, por ter acreditado que eu era capaz quando eu não mais acreditava, pelas sábias palavras que foram meu guia e incentivo para dar foco ao meu trabalho e abstrair tudo de ruim que viesse me prejudicar e por todos os ensinamentos que a mim foram transferidos.

Ao doutorando Adalberto Enumo Junior que me auxiliou durante todo o projeto, doou seu tempo, paciência e suporte necessário em cada etapa para que eu pudesse finalizar minha pesquisa.

Aos companheiros do laboratório POLIMAT, Natália, Mariele, Rubiane, Alana, Giuliana, Alemão, Idejan, Guilherme, Flávio, Ludmila, Cassiana e ao professor Dr. Thiago Ferreira da Conceição que de alguma forma me auxiliaram na dinâmica do

laboratório, na realização das análises e deram-me ânimo e empolgação nos momentos em que o cansaço e as frustrações vinham me abater.

A Central de Análises do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos pela utilização do goniômetro para realizar as análises de ângulo de contato.

Ao Núcleo de Pesquisa em materiais Cerâmicos e Compósitos (CERMAT) do departamento de Eng. Mecânica da UFSC por fornecer as micrografias através do microscópio eletrônico de varredura.

A todos os mestres que além de conhecimento que a mim foi repassado estes serviram de exemplo como profissionais a serem seguidos e honrados.

Ao CNPQ que disponibilizou todo o suporte financeiro necessário.

A UFSC que me proporcionou toda estrutura física em termos de salas de aula e laboratórios e todo o corpo docente disponível.

RESUMO

Membranas biodegradáveis a base de quitosana (QTS) ácida e reticulada com diferentes concentrações (1,0, 1,5 e 2,0 % m/V) de tripolifosfato de sódio (TPP) contendo antifúngico cloridrato de terbinafina (TBF) 100 mg/g foram produzidas pelo método de secagem de solvente (*casting*). Caracterizações físico-químicas dos materiais foram realizadas a fim de investigar o efeito da reticulação iônica e da presença do fármaco nas membranas desenvolvidas, tais como: microscopia de luz polarizada, microscopia eletrônica de varredura (MEV), calorimetria diferencial de varredura (DSC), espectroscopia de infravermelho (FTIR), análise mecânica, ângulo de contato, intumescimento e liberação da TBF contida na matriz em meio simulado com pH da pele (5,5). Nas microscopias de luz polarizadas das membranas contendo TBF foram observados pontos brilhantes referentes aos cristais de fármaco não completamente dissolvidos. Nas análises térmicas não foram verificados picos de fusão na região característica de cristais de terbinafina, indicando que o fármaco interage de forma favorável com a quitosana e ocorre boa dispersão do medicamento na matriz polimérica. Através de FTIR, observa-se que a adição de TPP causa diminuição da banda característica de amina protonada da quitosana em torno de 1555 cm^{-1} com concomitante aumento da banda típica de fosfato próximo a 890 cm^{-1} , sugerindo que as membranas estão reticuladas via interações iônicas entre os grupos POO^- do TPP e NH_3^+ da quitosana. A inserção de TBF hidrofóbica na membrana de quitosana resulta em um aumento da hidrofobicidade da superfície do material (aumento do ângulo de contato da gota de água) em comparação com as membranas puras, enquanto que o tripolifosfato ocasiona diminuição do ângulo de contato. O intumescimento das membranas analisadas durante 9h apresentaram ganho de massa de aproximadamente 1000 até apenas 150% com o aumento da concentração de TPP, o que influencia o perfil de liberação da TBF em pH 5,5. A formulação sem TPP apresenta liberação total em menos de 12 h enquanto a com maior porcentagem de TPP leva mais de 250 h para liberação completa. Os resultados foram promissores, apresentando potenciais características para uso na liberação tópica de terbinafina a partir de membranas biodegradáveis de quitosana.

Palavras-chave: Terbinafina, Antifúngico, Quitosana, Reticulação, propriedades físico-químicas.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Estrutura química do cloridrato de terbinafina.....	16
FIGURA 2. Estrutura química da quitosana obtida pelo processo de desacetilação.....	19
FIGURA 3. Estrutura de sistemas a base de quitosana reticulados ionicamente com o tripolifosfato de sódio (TPP).....	22
FIGURA 4. Aspecto físico das membranas de quitosana reticuladas com TPP.....	29
FIGURA 5. Aspecto físico das membranas de quitosana contendo antifúngico terbinafina e reticuladas com TPP.....	30
FIGURA 6. Espectro de infravermelho para as membranas de quitosana pura e reticuladas com TPP sem a adição de terbinafina.....	31
FIGURA 7. Espectro de infravermelho da terbinafina utilizando pastilha de KBr.....	32
FIGURA 8. Espectro de infravermelho para as membranas de quitosana e reticuladas com TPP contendo terbinafina.....	33
FIGURA 9. Microscopias óticas das membranas de (a) QTS ÁCIDA, (b) QTS TPP 2,0%, (c) QTS TBF e (d) QTS TBF TPP 2,0% na ausência de luz polarizada (esquerda) e aplicando luz polarizada (direita).....	34
FIGURA 10. Curvas de tensão versus deformação para a avaliação das propriedades mecânicas das membranas obtidas sem terbinafina (a) e com terbinafina (b).....	36
FIGURA 11. Termogramas obtidos por DSC (segunda corrida) para as membranas de quitosana ácida e reticuladas com TPP em diferentes concentrações sem a adição de terbinafina.....	38
FIGURA 12. Termogramas obtidos por DSC para a terbinafina e para as membranas (segunda corrida) de quitosana ácida e reticuladas com TPP em diferentes concentrações contendo terbinafina.....	39
FIGURA 13. Imagens das gotas adquiridas durante os ensaios de ângulo de contato utilizando água como solvente para as membranas contendo (a) QTS PURA, (b) QTS TPP 1,0%, (c) QTS TPP 1,5%, (d) QTS TPP 2,0%, (e) QTS TBF PURA, (f) QTS TBF TPP 1,0%, (g) QTS TBF TPP 1,5% e (h) QTS TBF TPP 2,0%.....	40
FIGURA 14. Perfil de intumescimento das diferentes membranas de quitosana Realizadas em tampão fosfato de pH 5,5.....	42
FIGURA 15. Microscopia eletrônica de varredura das membranas de (a) QTS TBF, (b) QTS TBF TPP 1,0% e (c) QTS TBF TPP 2,0%.....	43
FIGURA 16. (a) Espectros de absorção da terbinafina ($2,0 - 42,4 \mu\text{g mL}^{-1}$) em solução aquosa contendo Tween 80 (0,5% m/V) e (b) curva de calibração utilizada para quantificar o fármaco durante o experimento de liberação em fluido simulado.....	45

FIGURA 17. Perfis de liberação da terbinafina contida nas membranas de quitosana ácida e reticulada com TPP em diferentes concentrações em solução tampão de pele simulada pH 5,5 a 37°C.....45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Propriedades mecânicas das membranas de quitosana pura, reticulada com TPP em diferentes porcentagens e com terbinafina.....	36
Tabela 2. Valores da média e desvio dos ângulos de contato ($^{\circ}$) para as diferentes membranas de quitosana obtidas a partir do ensaio da gota de água.....	40
Tabela 3. Parâmetros cinéticos para a liberação da terbinafina em pH 5,5.....	47

LISTA DE SIGLAS, SIMBOLOS E ABREVIATURAS

% GD: Grau de desacetilação da quitosana

$\lambda_{\text{máx}}$: Comprimento de onda máximo de absorção

DSC: Calorimetria diferencial de varredura

E%: Porcentagem de elongação para filmes

ME: Módulo de elasticidade

FTIR: Espectroscopia de Infravermelho

GI: Grau de intumescimento

m/v: Proporção massa volume

MEV: Microscopia eletrônica de varredura

PET: polietileno tereftalato

QTS: quitosana

Tg: transição vítrea

TBF: Cloridrato de Terbinafina

TPP: Tripolifosfato de sódio

TS: Tensão na ruptura

Tween 80: Polioxoetilensorbitano Monooleato

v/v: Proporção volume/volume

V: Volume

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1 A pele	14
2.2 Problemas de pele relacionados com fungos	14
2.3 Cloridrato de terbinafina	16
2.4 Novos processos para incorporação de fármacos	18
2.5 Biopolímero Quitosana	19
2.6 Reticulação iônica da quitosana	21
3. OBJETIVOS.....	23
3.1 Objetivo Geral	23
3.2 Objetivos Específicos.....	23
4. MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1 Materiais e reagentes	24
4.2 Métodos	24
4.2.1 Obtenção das membranas de quitosana e reticulação iônica	24
4.2.2 Obtenção das membranas de quitosana contendo agente antifúngico	25
4.2.3 Caracterização das membranas	25
4.2.3.1 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	25
4.2.3.2 Microscopia ótica de luz polarizada.....	25
4.2.3.3 Ensaio de tensão x deformação	26
4.2.3.4 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	26
4.2.3.5 Determinação do ângulo de contato	27
4.2.3.6 Grau de intumescimento (%GI)	27

4.2.3.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	27
4.2.3.8 Quantificação da terbinafina em meio biológico simulado.....	28
4.2.3.9 Perfis de liberação <i>in vitro</i> da terbinafina em tampão pH 5,5	28
4.2.4 Segurança no laboratório e tratamento/destino dos resíduos gerados	
29.	Erro! Indicador não definido.
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1 Avaliação geral das características das membranas obtidas	29
5.2 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) ..	30
5.3 Microscopia ótica de luz polarizada.....	33
5.4 Ensaio de tensão x deformação	35
5.5 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	37
5.6 Determinação do ângulo de contato	40
5.7 Grau de Intumescimento (%)	41
5.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	43
5.9 Perfis de liberação da TBF a partir de membranas reticuladas de quitosana.....	44
6. CONCLUSÃO	49
7. REFERÊNCIAS.....	51

1. INTRODUÇÃO

Doenças causadas por fungos afetam grande parte da população mundial, em destaque a grande parcela que vive em zonas tropicais, devido a excessiva umidade e altas temperaturas. Algumas patologias apresentam maior incidência no Brasil pela presença de habitat natural do fungo e outros fatores de predisposição relacionados ao hospedeiro como a distribuição relacionada à região geográfica e ao nível socioeconômico, a ocupação profissional, os hábitos e os costumes individuais. A indústria farmacêutica tem desenvolvido inúmeras formas de tratar os problemas gerados por fungos, mas a grande parcela dos fármacos usados para este fim apresenta-se pouco solúvel, mas com alta permeabilidade (Classe II). Um exemplo de fármaco utilizado para esse fim é o cloridrato de terbinafina. A terbinafina é um agente antifúngico de amplo espectro de aplicação, para diversas classes de fungos, apresenta alta permeabilidade, porém é pouco solúvel.

Em virtude da sua baixa solubilidade, uma alternativa de uso seria mediante a incorporação deste em membranas poliméricas a base de quitosana com possibilidade de aplicação transdérmica. Assim o fármaco pode ser associado a um polímero natural compatível e a rota de aplicação se daria por via tópica, aumentando a eficiência do fármaco a fim de atingir efeito terapêutico.

Devido às características químicas e grupos funcionais amino e hidroxila a quitosana pode sofrer modificações para melhorar sua resistência física e mecânica. Para tal a reticulação iônica, pois pode também controlar o processo de liberação do fármaco em solução tampão.

Assim neste estudo, avaliou-se o preparo e caracterização das membranas de quitosana contendo o fármaco cloridrato de terbinafina na presença e ausência do reticulante tripolifosfato de sódio.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A pele

A pele também denominada de cútis ou tegumento é o maior órgão do corpo humano abrangendo uma área superficial de 1,5 a 2,0 m² e confere aproximadamente 16% do peso corpóreo total. ^{[1][2]} Ela é formada por uma camada mais externa denominada de epiderme onde estão depositadas células mortas, abaixo desta é encontrada a derme formada por tecidos conjuntivos. A terceira camada mais interna é formada pelo tecido subcutâneo denominado de hipoderme. ^{[2][3]}

A pele é um agente termorregulador que previne a perda de líquidos intracorpóreos como água em especial, confere a homeostase, participa de processos metabólicos e imunológicos, atua como barreira física, controla a absorção de radiação UV, oferece condições para a percepção da dor através de terminações nervosas que também permitem detectar estímulos exógenos como frio, calor e ação de agentes químicos que possam agredir a pele. ^{[1][4]} É a primeira barreira contra a patogenicidade de micro-organismos, protege contra o ataque de certos fungos e vírus em geral. ^{[1][4]}

2.2 Problemas de pele relacionados com fungos

Os fungos são micro-organismos existentes em toda parte, no ar, no solo, em plantas, animais e nos seres humanos. Das várias espécies existentes algumas destas são benéficas aos seres vivos que são utilizados na indústria de processamento de alimentos e rações como cogumelos, leveduras e fungos filamentosos. ^[5] Os fungos nocivos causam doenças que muitas vezes são difíceis de serem diagnosticadas e tratadas. Um exemplo são as infecções fúngicas de pele onde tais parasitas acabam se tornando um problema de saúde pública mundial. Os índices de tais doenças só tendem a aumentar devido ao uso de antimicrobianos e anti-inflamatórios devido a mutagenicidade de fungos que acabam se tornando resistentes aos fármacos. ^{[6][7]} As infecções fúngicas superficiais são popularmente conhecidas por micoses, é a quarta doença mais comum em seres humanos e têm a tendência de se tornarem mais graves em indivíduos que apresentem o sistema

imunológico indefeso, assim como pacientes que apresentam quadro de doenças como AIDS, diabetes e câncer. ^[8]

Estimativas apontam que cerca de 20 a 25% das pessoas considerando todos os continentes são afetadas por infecções superficiais da cútis, salientando-se que as mais prejudicadas são as que habitam regiões tropicais onde o clima e a umidade são ideais para o desenvolvimento de tais parasitas. ^{[7][8]}

As infecções fúngicas de pele são caracterizadas pelo ataque dos fungos ao estrato córneo e tecidos queratinizados como a epiderme, unhas e cabelos. A transmissão da doença ocorre por contato direto com a área contaminada e indiretamente por contato com epiderme descamada e cabelo. ^{[6][7]}

Existem várias formas de tratamentos para as infecções de pele causadas por fungos fazendo-se uso de agentes tópicos como pomadas, cremes, géis, loções, xampus, pós e aerossóis a base de imidazóis, tais como: clotrimazol, miconazol, cetoconazol, econazol e tioconazol entre outros. E antifúngicos a base de alilamina, tais como: a terbinafina e naftifina e a base de benzilamina como a butenafina. A terapia oral se faz uso de medicamentos triazóis como itraconazol, fluconazol. Para tratar todas as micoses superficiais, a terbinafina é aplicada em infecções superficiais da pele e unhas além de combater leveduras, fungos dermatófitos e dimórficos, ^[9] a griseofulvina é utilizada no tratamento da tinea capitis. A maioria desses fármacos atacam as enzimas que fazem parte de alguma etapa da via de síntese da parede celular fúngica danificando sua função e levando a morte do fungo. ^{[10][11][12][13][14][15]}

A terapia tópica através de sistemas de administração transdérmica de medicamentos (TDDS) é frequentemente preferida à administração oral de drogas no tratamento de infecções fúngicas superficiais cutâneas. Pois, a concentração necessária para a atividade antimicótica na região alvo da pele pode ser mais facilmente obtida através de dosagens mais baixas, se a liberação e penetração do fármaco ocorrerem de forma a atingirem a atividade terapêutica de forma eficiente. ^[16] Medicamentos por via oral precisam de dosagens mais elevadas ao serem administrados, aumentando assim o risco de efeitos adversos como irritações gastrointestinais. É esperado que a administração tópica resulta em níveis sistêmicos muito menores e muitas vezes indetectáveis, evitando dessa maneira os efeitos colaterais do fármaco quando são metabolizados pelo organismo. ^[17] A eficácia terapêutica de uma formulação transdérmica depende tanto da natureza do

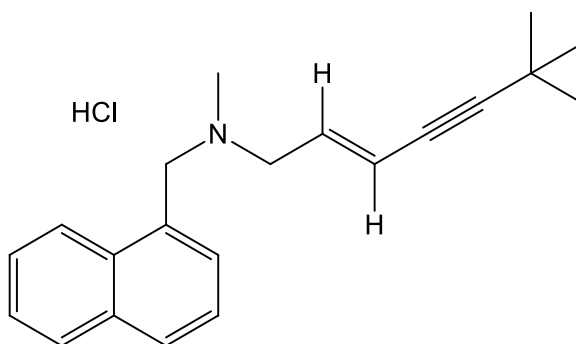
veículo como das propriedades físico-químicas como tamanho da molécula e pH da substância ativa.

2.3 Cloridrato de terbinafina

A indústria farmacêutica tem desenvolvido inúmeras formas de tratar os problemas gerados por fungos, mas a grande parcela dos fármacos usados para este fim apresenta-se pouco solúvel, mas com alta permeabilidade (Classe II). Um exemplo de fármaco utilizado para esse fim é a terbinafina.

A terbinafina (TBF) é um agente antifúngico derivado de alilamina com amplo espectro de aplicação, para diversas classes de fungos, podendo ser utilizado em diversas formulações de uso oral e tópico. ^[18] Normalmente esse composto se apresenta na sua forma salina, como cloridrato de terbinafina (hidrocloreto de (E) - N- (6,6-dimetil-2-hepten-4-in-il) -N -metil-1-naftalenometanamina); **Figura 1**. Sua massa molar é de 327,89 g mol⁻¹ que corresponde a fórmula molecular C₂₁H₂₆NCl. ^{[9][19]}

Figura 5. Estrutura química do cloridrato de terbinafina. ^[9]



É solúvel em solventes orgânicos como metanol, cloreto de metileno, etanol e em acetona, possui solubilidade reduzida em água frente aos solventes mencionados. Seu ponto de fusão está entre 195-198 °C, entretanto são observadas alterações na estrutura cristalina na temperatura de 150 °C. ^[19] Possui coeficiente de partição octanol/água (log p) de 3,3 e dependente do pH do meio. O valor do pKa da TBF é de 7,1. ^[18]

A terbinafina (TBF) é um medicamento aprovado pela *food and drug administration* (FDA). Esta agência recomenda sua aplicação na ocorrência de dermatofitoses, pitíriase versicolor, candidíase cutânea, infecções fúngicas superficiais como dermatite seborreica, tinea capitis, tinea corporis, tinea pedis, onicomicoses dentre outros. ^{[18][9][19]}

Está comercialmente disponível nas formas farmacêuticas de cremes, géis, comprimidos, sprays e soluções. ^[20] A dose oral diária de terbinafina em adultos (incluindo idosos) é de 250 mg, que pode ser administrado como dose única ou como 125 mg duas vezes ao dia. A duração do tratamento necessário é de 2 a 6 semanas para tinea pedis e 2 a 4 semanas para tinea corporis / cruris e candidíase cutânea. Para a onicomicoses são necessários 6 semanas a 4 meses de tratamento. Terbinafina 1% em creme pode ser aplicado uma ou duas vezes por dia para tinea corporis / cruris e candidíase cutânea geralmente requerem tratamento de 1 a 2 semanas, tinea pedis 2 a 4 semanas e pitíriase versicolor 2 semanas. ^[21] Terbinafina tem natureza altamente lipofílica e tende a se acumular na pele, unhas e tecidos adiposos. Devido às propriedades lipofílicas da terbinafina, sua eliminação do tecido adiposo ocorre mais lentamente que em outros tecidos. A droga também é secretada no leite materno. A terbinafina sofre um extenso metabolismo hepático e é excretada principalmente na urina (aproximadamente 80% de uma dose), com o restante nas fezes. ^{[21][22][23]} Em excesso pode causar alguns efeitos colaterais como reações alérgicas (dificuldade em respirar, fechamento da garganta e inchaço dos quadris, língua, face e fígado) além de erupções cutâneas e alterações na visão. ^[19]

As alilaminas interferem na fase inicial da biossíntese do ergosterol, inibindo a enzima esqualeno epoxidase. ^[24] A esqualeno epoxidase é uma mono-oxigenase que catalisa a conversão do esqualeno em 2,3-oxidosqualeno. As esqualeno epoxidases são essenciais para a síntese de colesterol em mamíferos e ergosterol em fungos. ^[25] O ergosterol é o principal esteróide da membrana fúngica que regula a fluidez da membrana, a biogênese e a função da membrana plasmática. ^[26] A depleção resultante do ergosterol e o acúmulo de esqualeno são tóxicos e afetam a estrutura e a função da membrana celular, levando ao comprometimento da permeabilidade seletiva da célula fúngica que corrobora no processo de lise celular. ^{[21][27]}

A administração oral mostrou estar associada a interações medicamentosas, hepatotoxicidade, efeitos colaterais gastrointestinais e sistêmicos, intolerância à

lactose e outros efeitos adversos. Por isso, uma abordagem de administração tópica de medicamentos melhorada poderia superar essas limitações, pois proporciona acesso imediato ao local da infecção e reduz a exposição sistêmica à droga indesejada. ^[18]

Em virtude da sua baixa solubilidade, uma alternativa de uso seria mediante a incorporação da terbinafina em membranas poliméricas com possibilidade de aplicação transdérmica. Assim o fármaco pode ser associado a um polímero natural compatível e a rota de aplicação se daria por via tópica, aumentando a eficiência do fármaco a fim de atingir efeito terapêutico, diminuindo os problemas colaterais. ^[28]

Desta maneira, o desenvolvimento de membranas a base de quitosana contendo terbinafina como agente antifúngico se torna uma estratégia versátil para a aplicação de uma formulação tópica. Adicionalmente, o uso de reticulante TPP pode ajudar a modular a liberação do fármaco na pele à partir da matriz polimérica.

2.4 Novos processos para incorporação de fármacos

Com o suporte de novas tecnologias, as formulações farmacêuticas vêm sofrendo ativas transformações nos últimos anos para melhorar o fornecimento e liberação de fármacos para o tratamento de doenças em geral e aquelas ocasionadas por fungos. Atualmente, além das formulações tradicionais, destacam-se algumas novas formas: comprimidos revestidos com membranas semipermeáveis, adesivo transdérmico, implantes subcutâneos, microesferas, lipossomas, hidrogéis biodegradáveis e membranas poliméricas. A presença de um biomaterial nestas formulações auxilia a liberação controlada do fármaco que se deseja veicular. ^{[29][30]}

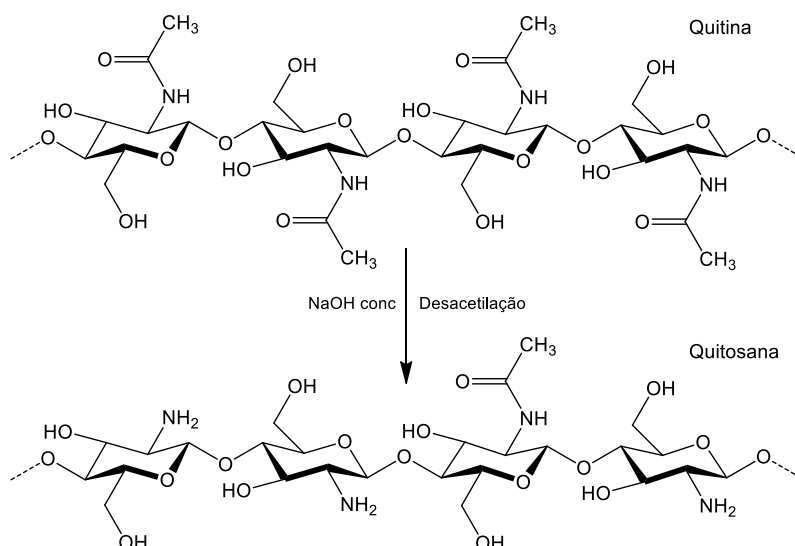
Entre os biomateriais, as membranas poliméricas se tornaram uma classe de dispositivos de distribuição de medicamentos muito importante, não só devido à sua biocompatibilidade, mas também porque seus produtos de degradação não são imunogênicos, carcinogênicos ou tóxicos para seres humanos. A taxa de liberação de fármaco em tais sistemas pode ser controlada por propriedades poliméricas, tais como capacidade de inchamento, degradabilidade, porosidade e permeabilidade. Diversos polímeros naturais e sintéticos foram investigados, por exemplo, poli(ácido acrílico), ácido hialurônico, celulose, amido, colágeno, alginato e quitosana. ^{[29][31]}

A este respeito, a quitosana é um polímero com características físico-químicas importantes para a formação de filmes e membranas devido suas ligações de hidrogênio intra e intermoleculares, sua hidrofiliabilidade, adesividade, caráter catiônico, dentre outros aspectos. [30]

2.5 Biopolímero Quitosana

A quitosana é um poliaminossacarídeo derivado da reação de desacetilação parcial da quitina, um mucopolissacarídeo formado por unidades de 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopirranose e 2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose unidos por ligação glicosídica do tipo $\beta(1 \rightarrow 4)$ **Figura 2.** [29][32]

Figura 6. Estrutura química da quitosana obtida pelo processo de desacetilação. [33]



Entre os biopolímeros a quitina é um dos mais abundantes naturalmente existentes. Ela é encontrada na carapaça de crustáceos e insetos, em cogumelos, na parede celular de leveduras e algas verdes. [31] Em nível de disponibilidade comercial os resíduos de crustáceos como caranguejos e camarões são as principais fontes de quitina disponíveis. Este biopolímero é uma fonte financeiramente viável e facilmente obtida considerando que milhões de toneladas são colhidas anualmente no mundo inteiro. [34]

O processo mais empregado para a obtenção da quitosana é a desacetilação onde há um controle de temperatura juntamente de hidrólise química na presença de

um hidróxido para que os grupos acetila que se encontram ligados a radicais amina na posição C2 do anel (N-acetil-D-glucosamina) sejam removidos produzindo um derivado desacetilado. ^{[31][34]}

Desta forma a quitina passa a ser denominada quitosana quando apresenta cerca de 50-60% dos resíduos de 2-amino-2-desoxi-Dglicopirranose presentes em sua estrutura cristalina. ^{[34][35]}

Diferentes graus de desacetilação (GD) ocasionam em estruturas com unidades glicosídicas de N-acetil-D-glucosamina e D-glucosamina proporcionalmente distintas. Esta alteração estrutural interfere de imediato as propriedades como solubilidade, cristalinidade, biodegradabilidade, viscosidade entre outros aspectos do polímero. ^{[34][36]} Quitosanas com grau de desacetilação inferior a 75% apresentam massa molar que variam entre 20 kg mol⁻¹ a 190 kg mol⁻¹. As que se apresentam com GD superiores a 75% são caracterizadas por pesos moleculares que variam de 190 kg mol⁻¹ a 375 kg mol⁻¹. ^[34]

A presença de grupos amino com pKa 6,3 nas unidades D-glicosamina possibilita que estes sejam convertidos na sua forma protonada o que faz da quitosana solúvel em soluções aquosas de ácidos orgânicos com pH inferior a 6,0, tornando-a um polieletrólito catiônico. ^{[29][31][33]} As propriedades da quitosana e o balanço de cargas na estrutura do polímero acabam sendo controlados pelo pH devido a existência dos grupos amino. ^[34] Esta acaba se tornando insolúvel quando exposta a pH superior a 6,0 pois suas aminas acabam sendo desprotonadas. Vale salientar que o pKa está intimamente correlacionado com o grau de N-acetilação. ^[33]

A quitosana dispõe de características físico-químicas que são apropriadas para diversas aplicações em vários ramos, como biotecnologia, nutrição, setor alimentício, ciência dos materiais, fármacos em geral, cosméticos, proteção ambiental, genética, agricultura entre outros. O motivo fundamental para esta atenção são suas propriedades distintas, por ser um poli(aminossacarídeo) natural, possui características que lhe conferem ser bioabsorvível, biodegradável, hidrofílica, ter afinidade por proteínas e atividade antimicrobiana. Sua capacidade de se solubilizar em meio ácido faz com que a quitosana possa ser obtida sob a forma de fibras, filmes, membranas, partículas e gel que potencializam a sua utilidade. ^[32]

Dentre essas possibilidades, as membranas de quitosana são as que apresentam boas características que fazem dela um novo sistema de liberação de fármacos por terapia tópica além de apresentar custos de produção mais acessíveis.

2.6 Reticulação iônica da quitosana

As membranas de quitosana são frequentemente modificadas através de processos de reticulação a fim de melhorar características como resistência química e mecânica devido sua característica hidrofílica e facilidade de solubilizar em solução ácida $\text{pH} < 6,5$. Além do grau de intumescimento, permeação de moléculas de baixa massa molar e controle da liberação de medicamentos. Tais modificações ocorrem nos grupos amino e hidroxila livres presentes na estrutura do poliaminossacarídeo. [37][32]

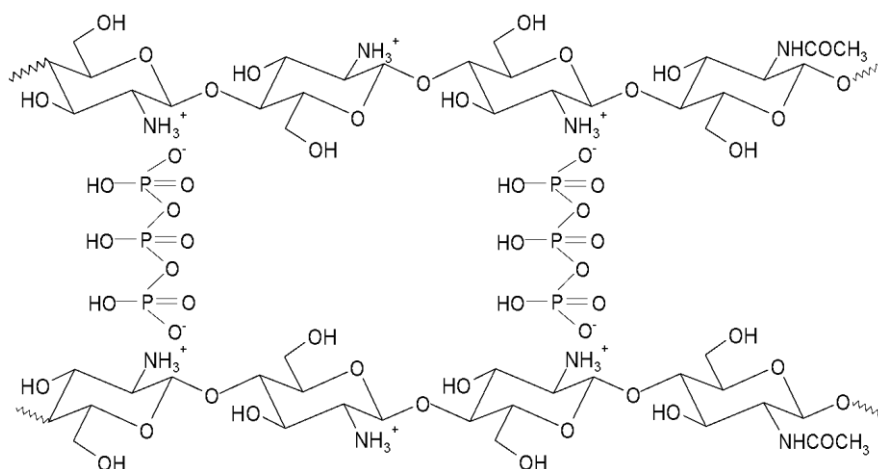
A reticulação é uma reação que ocorre entre grupos amino e hidroxila livres presentes na estrutura do poliaminossacarídeo e um agente de reticulação através da formação de ligações entre as cadeias da quitosana. [38]

Dependendo da natureza do agente reticulante, a quitosana pode ser reticulada covalentemente ou ionicamente. Reticulantes como glutaraldeído, etilenoglicol, genipina e carbodiimida promovem ligações covalentes estáveis através de seus grupos funcionais formando reações de condensação com as cadeias do polissacarídeo. Contudo, estes agentes químicos de reticulação tem risco de toxicidade para aplicação em membranas que visam o tratamento de doenças através da derme. [32][39]

O processo de reticulação iônica pode ser realizado via agentes físicos de baixo peso molecular como citrato, sulfato e tripolifosfato de sódio (TPP). [39] Teoricamente, a quitosana pode sofrer reticulação iônica com qualquer composto químico que possua pelo menos dois grupos funcionais que geram uma carga negativa em água, por exemplo, -COO^- , -SO_3^- , -PO_3^{2-} . [38]

O tripolifosfato de sódio ($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$) é um ânion multivalente que pode formar ligações cruzadas por interação iônica entre os grupos -NH_3^+ positivamente carregados da quitosana e o contra-íon -PO_4^{3-} negativamente carregado das moléculas de TPP, a atração eletrostática entre os grupos faz com que os dois compostos se aproximem por reticulação iônica conforme pode ser observado na **Figura 3**. [40]

Figura 7. Estrutura de sistemas a base de quitosana reticulados ionicamente com o tripolifosfato de sódio (TPP) ^[40]



De modo geral as propriedades das membranas reticuladas ionicamente como resistência mecânica, intumescimento, permeação de moléculas de baixa massa molar e liberação de fármacos são diretamente influenciadas pela densidade de reticulação. Já a estrutura molecular do ânion afetam as interações eletrostáticas entre os reticuladores iônicos e a quitosana. As propriedades da quitosana, como peso molecular e grau de desacetilação, também controlam a interação entre quitosana e reticulantes aniônicos. ^[39]

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste estudo é o preparo de membranas a base de quitosana pelo método de casting contendo o antifúngico cloridrato de terbinafina, com posterior reticulação iônica, visando o tratamento de doenças de pele.

3.2 Objetivos Específicos

1. Preparar membranas a base de quitosana utilizando a técnica de evaporação de solvente (*casting*);
2. Incorporar nas membranas desenvolvidas o agente antifúngico terbinafina;
3. Otimizar a reticulação iônica das membranas de quitosana por imersão em soluções de tripolifosfato de sódio (TPP) em diferentes concentrações;
4. Avaliar a morfologia das membranas por meio de microscopia ótica e microscopia eletrônica de varredura;
5. Caracterizar as membranas desenvolvidas por espectroscopia no infravermelho (FTIR), calorimetria diferencial de varredura (DSC), ensaios mecânicos, grau de intumescimento e solubilidade das membranas;
6. Avaliar os perfis de liberação da terbinafina através das membranas em solução tampão pH simulado de 5,5 (pH da pele).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais e reagentes

A quitosana de massa molar média 106 Kg.mol^{-1} com grau de desacetilação de aproximadamente 87% e o tripolifosfato de sódio foram obtidos da Sigma-Aldrich. O agente antifúngico cloridrato de terbinafina é proveniente da farmácia de manipulação Magistrale (Florianópolis, Brasil). Os demais reagentes e solventes que foram empregados durante o desenvolvimento da pesquisa são de grau analítico e utilizados sem purificação prévia.

4.2 Métodos

4.2.1 Obtenção das membranas de quitosana e reticulação iônica

O grau de desacetilação e massa molar da quitosana foram previamente determinados por FTIR e viscosimetria, respectivamente. ^{[41][42]}

As membranas de quitosana foram obtidas pela técnica de secagem com evaporação de solvente (*casting*). Uma solução padrão viscosa de quitosana 1,0% (m/v) foi preparada pesando-se 10,0 g de quitosana, dissolvida em solução de ácido acético 1% (v/v). A solução permaneceu sob agitação mecânica de 400 rpm durante 24h a temperatura ambiente. Após a solubilização, esta foi filtrada para a remoção de qualquer resíduo de quitina. 50,0 g desta solução foram distribuídas em placas de polietileno tereftalato (PET) e deixadas em repouso à temperatura ambiente até completa evaporação do solvente, por cerca de quatro dias. Após a secagem das membranas, procedeu-se a reticulação iônica, utilizando-se soluções de TPP a 1,0%, 1,5% e 2,0% (m/v). As soluções de TPP foram despejadas, individualmente, sobre as membranas secas, até a completa imersão das mesmas e deixadas em contato por um período de 3 h. Ao final deste tempo, o sobrenadante foi desprezado, as membranas foram lavadas com pequenas quantidades de solução hidroalcoólica (1:1). Após a completa evaporação da solução a temperatura ambiente, estas foram armazenadas para posterior análise.

4.2.2 Obtenção das membranas de quitosana contendo agente antifúngico

Para a obtenção das membranas contendo o agente antifúngico, segue-se a mesma metodologia descrita anteriormente. Foram dissolvidos 100,0 mg de Terbinafina em um 1,0 mL de etanol e adicionados a solução de quitosana 1,0%. A solução permaneceu sob agitação magnética de 1000 rpm durante 4 h para garantir a homogeneização do fármaco na solução. A solução resultante foi colocada em placas de PET seguindo os mesmos parâmetros de quantidade e secas a temperatura ambiente. Após a completa secagem destas membranas, procedeu-se a reticulação iônica com as diferentes soluções de TPP, como descrito no item 4.2.1. Após a completa secagem, estas foram armazenadas para posterior análise.

4.2.3 Caracterização das membranas

4.2.3.1 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As análises de infravermelho foram realizadas em um espectrofotômetro modelo IR-PRESTIGE 21 da marca Shimadzu. As membranas de quitosana pura e das diferentes formulações foram analisadas através da técnica de refletância atenuada (ATR-FTIR). Os espectros de absorção dessas amostras foram adquiridos na faixa de 750 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} com aquisição de 50 varreduras e resolução de 2 cm^{-1} . A terbinafina foi analisada usando-se pastilha de KBr, na faixa de 750 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} com aquisição de 50 varreduras e resolução de 2 cm^{-1} .

4.2.3.2 Microscopia ótica de luz polarizada

A microscopia ótica de luz polarizada é um ensaio para rápida observação de domínios cristalinos do fármaco no material, a diferença dos domínios cristalinos foi observada a partir da presença ou ausência de partículas luminosas. Como a quitosana é um polímero amorfo, as únicas espécies que podem proporcionar polarização da luz, são os cristais dos fármacos não solubilizados, presentes na matriz da membrana.

Esse ensaio foi realizado depositando um pedaço da amostra no suporte de um microscópio ótico convencional (Motic Microscopes) contendo uma lente polarizadora. A ampliação é escolhida e a imagem é capturada por fotografia digital.

4.2.3.3 Ensaio de tensão x deformação

Os ensaios de tensão-deformação têm como objetivo determinar diferentes propriedades mecânicas dos materiais, como módulo de elasticidade, tensão máxima e deformação.

Para a determinação das propriedades mecânicas das membranas foram realizados segundo a norma ASTM D882 (2002) ^[43] utilizando uma máquina universal de ensaio (EMIC, modelo DL2000) em modo de tração com a célula de carga TRD21 com capacidade máxima de 50 kgf. O corpo de prova foi fixado entre duas garras móveis, inicialmente a uma distância de 50 mm e a velocidade de afastamento das garras constante em 12,5 mm min⁻¹. As membranas obtidas foram cortadas em corpos de prova retangulares com 90 mm de comprimento, 12,35 mm de largura e a espessura foi medida em três pontos a fim de se tomar a média. Os corpos de prova foram acondicionados em uma câmara com umidade relativa controlada de 58 ± 5% (solução saturada de NaBr) por, 48 h antes da realização dos ensaios. Os ensaios foram realizados com ao menos 5 corpos de prova de cada amostra. Os resultados experimentais obtidos foram submetidos ao teste de Tukey para comparação das médias ao nível de significância de 95%. ^[43]

4.2.3.4 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

Uma massa entre 5 e 10 mg de cada membrana e do fármaco foram colocadas em um uma panela de alumínio, selada hermeticamente e procedeu-se a análise em duas corridas, com uso de um calorímetro diferencial de varredura (DSC) da marca Shimadzu, modelo DSC-50. Na primeira corrida, a amostra é aquecida a uma taxa de 10 °C min⁻¹ até 150 °C para evaporação completa da umidade residual presente nas amostras e destruição da história térmica. Após completar a primeira corrida, a panela foi submersa em nitrogênio líquido e resfriada a -20 °C. Em seguida, a amostra foi novamente aquecida a uma taxa de 5 °C min⁻¹ até 220 °C. Ambas as varreduras foram realizadas sob atmosfera inerte e dinâmica de N₂ a uma taxa de 50 mL min⁻¹. Para ser obtido a transição vítrea (T_g), esta foi calculada utilizando a meia altura da curva, tendo como referência a linha base.

4.2.3.5 Determinação do ângulo de contato

A hidrofiliabilidade da superfície das membranas poliméricas de quitosana ácida e reticulada contendo ou não terbinafina foi realizada aplicando uma gota de ~ 5 µL de água com auxílio de uma seringa em cima da superfície de cada material produzido. A câmera do goniômetro (Ramé-Hart Inst. Co – 250-F1) capta a imagem e o software (DropImage versão 3.54) analisa automaticamente o ângulo de contato que a gota apresenta. Foram realizadas 10 medidas em intervalos de 1 segundo de exposição. O experimento foi efetuado em triplicata

4.2.3.6 Grau de intumescimento (%GI)

O comportamento de ganho de massa por intumescimento das membranas foi estudado adicionando um recorte quadrado pré-pesado de 2,0 cm de largura das diferentes membranas em 25 mL de soluções tampão em pH 5,5, à temperatura de 37°C em agitação de 400 rpm em um banho Dubnof (QUIMIS). Em diferentes intervalos de tempo pré-determinados, a amostra foi retirada do tampão, removendo-se a água extra-superficial com papel absorvente, a amostra foi então pesada com precisão em balança analítica e depois colocada novamente na solução. O ganho de massa (%GI) em função do tempo foi obtido pela Equação 1.

$$\%GI = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde, W_t refere-se a massa da amostra no tempo t e W_0 a massa inicial da amostra.

4.2.3.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia superficial e interna, assim como o tamanho médio dos poros existentes na estrutura das membranas de quitosana pura, reticuladas e com a presença do fármaco foram determinadas empregando-se a técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). As amostras foram colocadas em *stubs*, e pulverizadas com uma fina camada de ouro e micrografadas. As amostras foram analisadas empregando um microscópio eletrônico de varredura (MEV) marca Hitachi e modelo TM 3030, acoplado a um analisador de energia dispersiva de raios-

X (EDS), onde são utilizadas várias ampliações em uma intensidade de 15 kV de voltagem de aceleração. As análises foram realizadas no Núcleo de Pesquisa em materiais Cerâmicos e Compósitos (CERMAT) do departamento de Eng. Mecânica da UFSC.

4.2.3.8 Quantificação da terbinafina em meio biológico simulado.

Para a quantificação da terbinafina em meio biológico simulado foi preparada uma curva de calibração a partir de uma solução estoque na qual foi pesado inicialmente 0,0106 g de terbinafina, dissolvida em tampão fosfato pH 5,5 na presença de surfactante Tween 80 (0,5% m/V), a fim de manter a condição *sink*, e completando-se o volume em balão de 100 mL. A partir desta solução foram realizadas diluições para obter soluções na concentração de $1,978 \times 10^{-3} \text{ mg mL}^{-1}$ a $0,042 \text{ mg mL}^{-1}$. e cada uma destas foi analisada na faixa de 200 à 400 nm com resolução de 1 cm^{-1} em um espectrofotômetro de UV visível (Cary-50 da Varian) obtendo-se as respectivas absorbâncias no comprimento de onda máximo ($\lambda_{\text{máx}} = 283 \text{ nm}$) do fármaco utilizado. A curva de calibração foi realizada plotando-se um gráfico de absorbância versus concentração de TBF, em que do coeficiente angular obtém-se o coeficiente de absorção molar.

4.2.3.9 Perfis de liberação *in vitro* da terbinafina em tampão pH 5,5

Amostras com formato quadrangular de largura 20 mm foram recortados das membranas contendo apenas o fármaco e reticuladas com TPP 1,0 a 2,0% havendo terbinafina, estas foram adicionados em erlenmeyers contendo 25 mL de solução tampão fosfato pH 5,5 contendo 0,5% (m/V) de Tween 80 a 37 °C (condição *sink*). Alíquotas de 500 μL foram retiradas da solução em tempos pré-determinados, adicionado em 2 mL da solução branco e analisados em um espectro de UV-Vis no $\lambda_{\text{máx}} = 283 \text{ nm}$. Com o uso da curva analítica foi realizada a quantificação da liberação do agente antifúngico. As alíquotas retiradas da solução inicial foram repostas com a solução tampão até o fim do estudo. Após a obtenção das curvas de liberação, o mecanismo de liberação foi estudado.

4.2.4 Segurança no laboratório e tratamento/destino dos resíduos gerados.

Durante o desenvolvimento de todo o trabalho de conclusão de curso, trabalhamos com sistemas biocompatíveis e soluções ácidas e/ou pH neutro, que não trazem riscos.

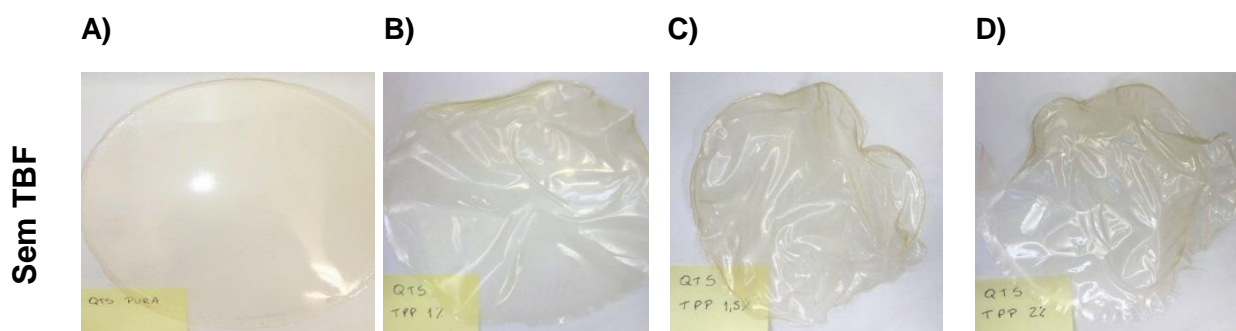
A maior parte dos resíduos aquosos gerados, são neutralizados, no laboratório, filtrados e o resíduo sólido gerado é seco e devidamente descartado.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação geral das características das membranas obtidas

Neste estudo, foram preparadas membranas de quitosana contendo o antifúngico terbinafina, através do método de *casting* e posterior reticulação com TPP, devido a facilidade de obtenção e baixo custo da técnica. As membranas ácidas de quitosana e reticuladas com soluções de 1,0%, 1,5% e 2,0% de TPP, apresentaram-se pouco flexíveis (rígidas), transparentes, com coloração amarelada, sem características adesivas e com superfícies brilhantes (**Figura 4**).

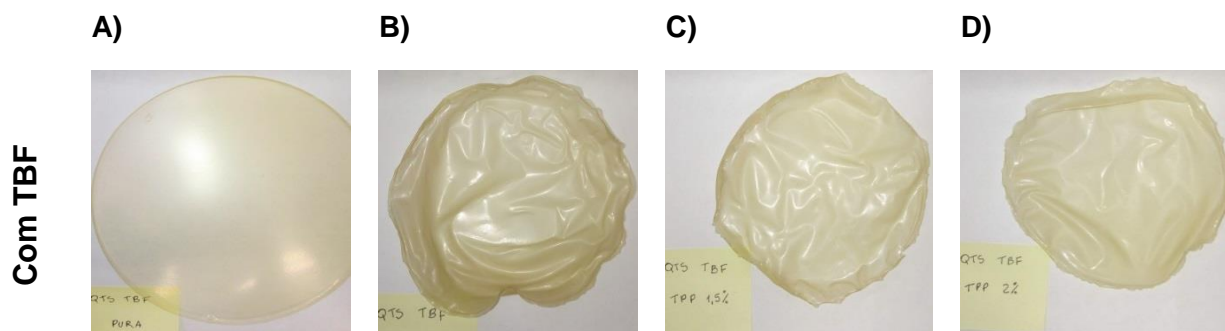
Figura 8. Aspecto físico das membranas de quitosana reticuladas com TPP. (a) QTS ÁCIDA, (b) QTS TPP 1,0%, (c) QTS TPP 1,5% e (d) QTS TPP 2,0%



As membranas que foram preparadas com a incorporação de terbinafina e posteriormente reticuladas com soluções de 1,0%, 1,5% e 2,0% de TPP, apresentaram-se relativamente opacas, translúcidas e de coloração amarelada, com

características mais rígidas que todas as suas amostras originais, verificando-se uma boa dispersão do fármaco nas membranas (**Figura 5**)

Figura 5. Aspecto físico das membranas de quitosana contendo antifúngico terbinafina e reticuladas com TPP (a) QTS TBF PURA, (b) QTS TBF TPP 1,0%, (c) QTS TBF TPP 1,5% e (d) QTS TBF TPP 2,0%

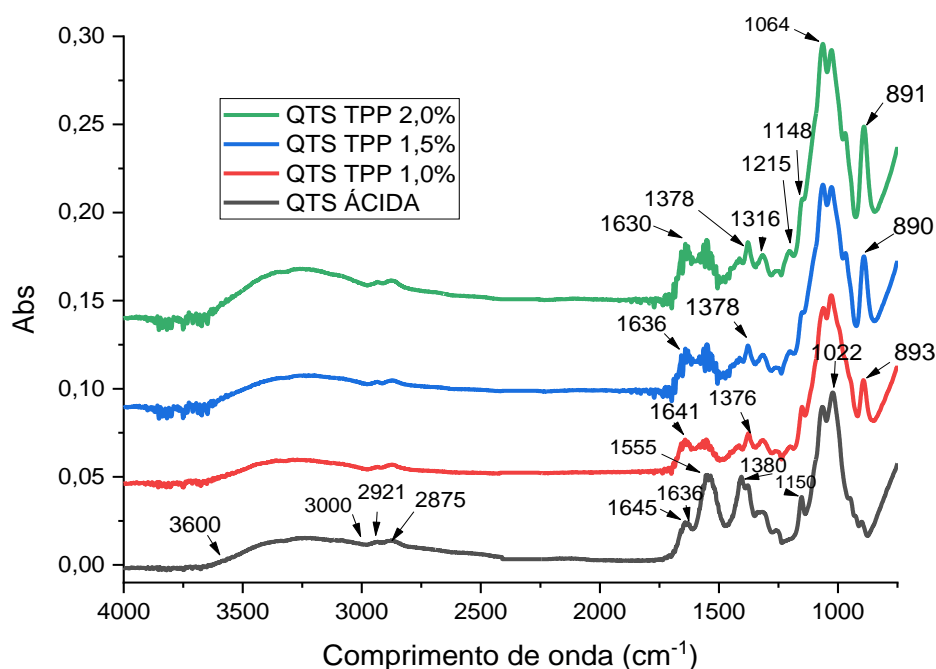


5.2 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Para todas as amostras desenvolvidas, análises de espectroscopia no infravermelho (FTIR), foram realizadas para verificar as principais características estruturais dos constituintes de cada membrana, assim como as possíveis interações entre quitosana/TPP e quitosana/terbinafina.

Na **Figura 6** é apresentado o espectro de FTIR para a membrana de quitosana pura e reticuladas.

Figura 6. Espectro de infravermelho para as membranas de quitosana pura e reticuladas com TPP sem a adição de terbinafina.



Observa-se a partir dos espectros, as principais bandas características para o polímero quitosana. Uma região ampla em $3600\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ referente aos estiramentos O–H que se sobrepõem às vibrações simétricas e assimétricas N–H dos grupos funcionais presentes na cadeia polimérica. ^[28] Os picos a 2921 e 2875 cm^{-1} são atribuídas às vibrações típicas de estiramento C–H. A banda em 1645 e 1022 são referentes ao estiramento do grupo C=O. ^[32] Ressalta-se para a membrana pura a banda em 1636 cm^{-1} referentes ao estiramento --COO^- referente do solvente ácido que resta na membrana e 1555 cm^{-1} referentes ao estiramento --NH_3^+ do grupamento amino protonado. A banda em 1555 cm^{-1} , tem sua intensidade diminuída nos espectros das membranas onde o polímero foi reticulado, em virtude das interações entre os grupamentos --NH_3^+ da quitosana e --POO^- do TPP. ^[28] Em 1380 cm^{-1} é verificado a banda do grupo NH_2 com deformação angular e acaba sendo deslocada para 1378 nas membranas reticulada com TPP 1,5 e 2%. Em 1150 cm^{-1} há a banda assimétrica de estiramento referente ao C–O–C. ^[32] Nos espectros das membranas reticuladas, observa-se o surgimento de bandas em 1064 cm^{-1} e $\sim 890\text{ cm}^{-1}$, referentes as vibrações do grupo PO_3 e o estiramento da ligação P–O–P, respectivamente. ^[44]

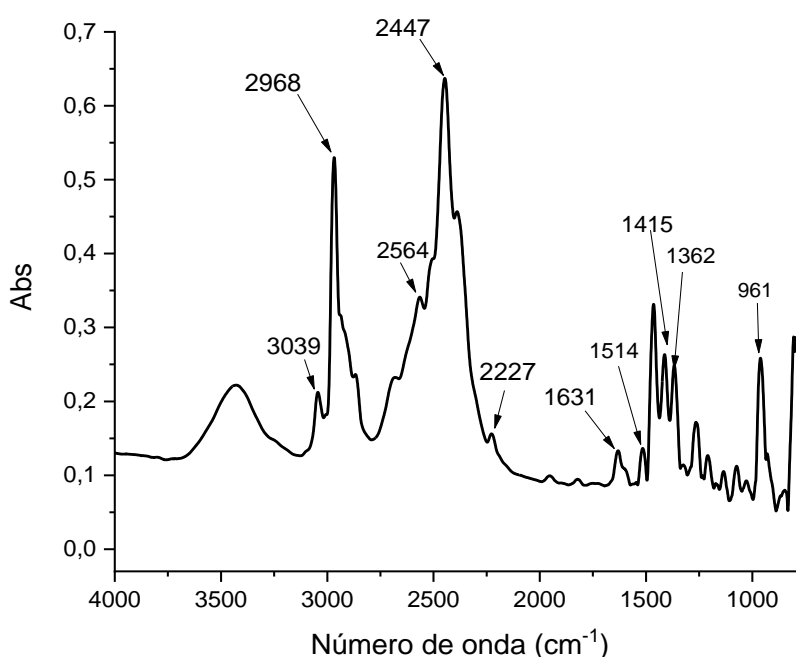
Em 1215 cm^{-1} é observado um novo pico que corresponde ao alongamento das vibrações anti-simétricas das pontes PO_2 grupos de íons de tripolifosfato. ^[39]

A banda de 1645 cm^{-1} pertencente a membrana de quitosana muda para 1641 cm^{-1} quando reticulada com solução de TPP a 1%, para 1636 cm^{-1} com solução a 1,5% e 1630 cm^{-1} quando 2%.

Essas bandas derivam principalmente das vibrações de deformação N-H anti-simétricas e simétricas em aminas protonadas e podem ser usadas para confirmar a formação do íon NH_3^+ .^[44]

Na **Figura 7**, está apresentado o espectro da terbinafina obtido em pastilha de KBr, onde observam-se as principais bandas que caracterizam o fármaco.^[9]

Figura 7. Espectro de infravermelho da terbinafina utilizando pastilha de KBr

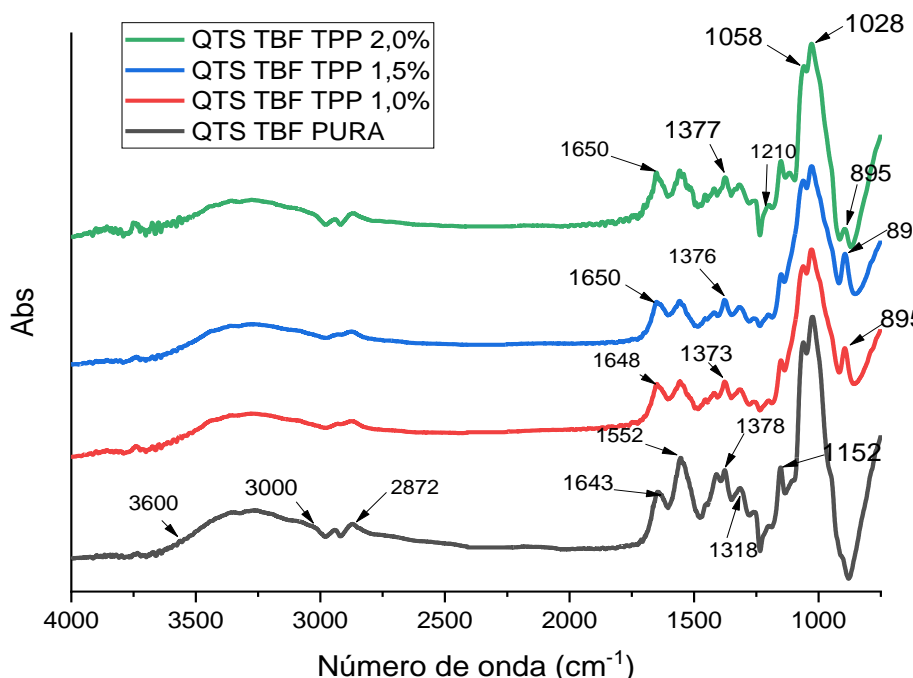


Em 3039 cm^{-1} é encontrado a banda de estiramento de grupos C-H pertencentes aos anéis aromáticos. Bandas referentes às deformações dos grupos alifáticos C-H são observadas por volta de 2968 cm^{-1} , referentes aos metil e metilenos presentes na estrutura do fármaco. Em 2564 cm^{-1} há a presença da banda de estiramento de grupos C-H alifáticos presentes na estrutura do composto. O anel aromático possui grupo $\text{C}\equiv\text{C}$ com estiramento em 2227 cm^{-1} .^[45] O grupo t-butila origina duas bandas de deformação axial, observadas em 1362 e 1415 cm^{-1} . As deformações axiais assimétricas de $\text{C}=\text{C}$ alifáticos e aromáticos estão presentes em 1631 e 1514 cm^{-1} , respectivamente, sua baixa intensidade é devido a posição trans. Por volta de 2448 cm^{-1} , uma banda intensa pode ser atribuída ao grupo amina.^[9] A

banda de estiramento C-N possui o valor de 1135 cm^{-1} . [45] A banda intensa a 961 cm^{-1} pode ser atribuída à olefina *trans*-substituída.

Na **Figura 8**, são observados os espectros de FTIR das membranas desenvolvidas contendo o fármaco. Ao compararem-se os espectros das membranas originais e das contendo o fármaco, observa-se que não há muita diferença nos espectros a não ser pequenos deslocamentos químicos das regiões referentes aos grupos -OH e -NH_3^+ no espectro. Este fato pode ser atribuído ao fato do fármaco estar disperso na matriz polimérica por ligações de hidrogênio.

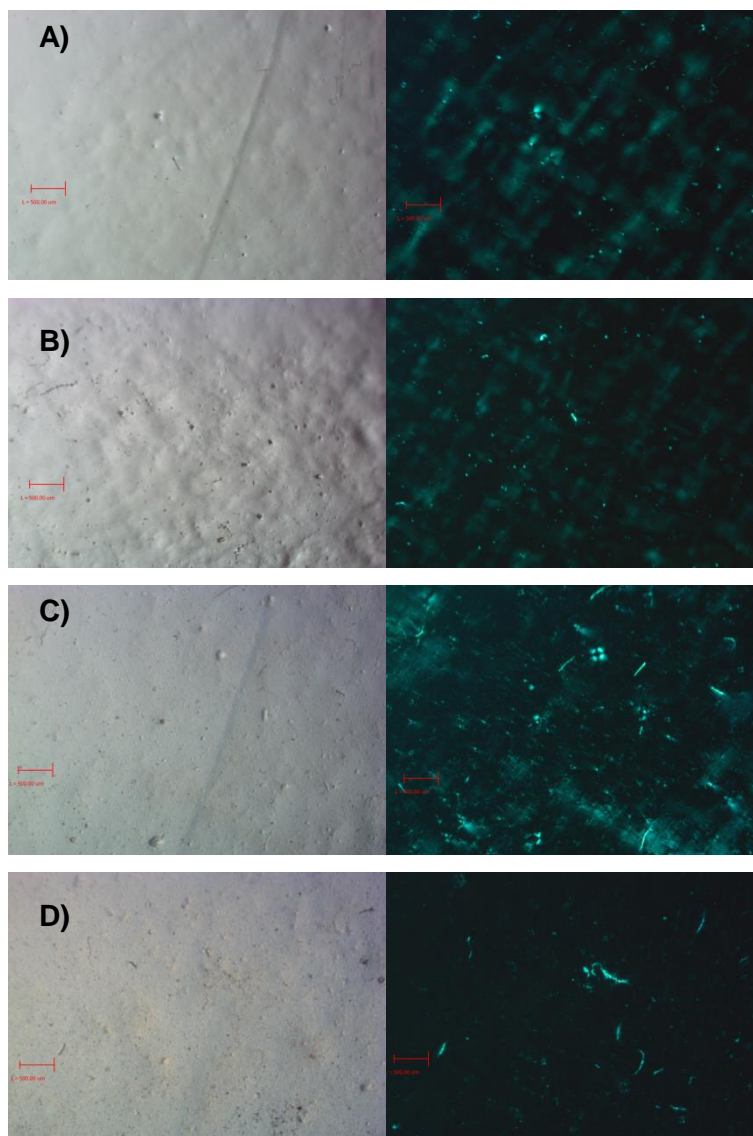
Figura 8. Espectro de infravermelho para as membranas de quitosana e reticuladas com TPP contendo terbinafina



5.3 Microscopia ótica de luz polarizada

Para melhor avaliar as características microscópicas das membranas fez-se uso de microscopia ótica e microscopia ótica com luz polarizada, **Figura 9**. A partir das microscopias óticas, foi possível observar que as membranas apresentaram superfícies irregulares principalmente por conta da presença de bolhas decorrentes do processo de secagem, seguido do processo de (reticulação) (Figura 9 b).

Figura 9. Microscopias óticas das membranas de (a) QTS ÁCIDA, (b) QTS TPP 2,0%, (c) QTS TBF e (d) QTS TBF TPP 2,0% na ausência de luz polarizada (esquerda) e aplicando luz polarizada (direita). As barras indicam tamanho de 500 μm .



Com o uso da técnica de microscopia ótica com luz polarizada aplicada a avaliação das membranas desenvolvidas, avalia-se a existência de domínios cristalinos na matriz polimérica, resultante de resíduos de TPP ou de fármaco ainda não solubilizado de forma completa (**Figura 9 a, b, c e d**, respectivamente). Nas microscopias das membranas contendo a TBF, observa-se a presença de pontos brilhantes birrefringentes, em pequena quantidade, referente à porção de cristais do fármaco não solubilizados de forma completa.

Indicando que mesmo incorporado à matriz de um polímero amorfo uma parcela da TBF continua em sua forma cristalina, sugerindo uma possível saturação do fármaco no sistema polimérico. A presença do reticulante contribui para o aumento da birrefringência da membrana tanto na presença quanto na ausência do fármaco, uma vez que o TPP é um sal cristalino e pode estar em excesso e, consequentemente insolúvel entre as cadeias da quitosana. ^[46]

5.4 Ensaio de tensão x deformação

A literatura reporta que as propriedades mecânicas para membranas de quitosana podem ser influenciadas pela massa molar do polímero e do ácido utilizado para a formação das soluções filmogênicas. ^[47] É reportado também que a tensão na ruptura aumenta com o aumento da massa molar da quitosana devido à formação das ligações de hidrogênio entre os grupos amino e hidroxila na formação dos filmes.

As propriedades mecânicas dos filmes podem ser alteradas pela adição de plastificantes e/ou reticulantes. Os plastificantes são moléculas de baixa massa molar, que são adicionados a sistemas poliméricos para diminuir as interações intra e intermoleculares entre as cadeias poliméricas aumentando assim o espaço livre e a mobilidade das cadeias. Os reticulantes químicos ou iônicos agem na formação de ligações intra e intermoleculares que restringem a mobilidade das cadeias poliméricas alterando as propriedades mecânicas das membranas ^[32] deixando-as mais rígidas.

Neste estudo, as propriedades mecânicas das membranas de quitosana foram obtidas através das medidas de tensão de ruptura (TR), alongação máxima (%E) e módulo de elasticidade (ME). Os resultados deste estudo estão sumarizados na **Figura 10** e na **Tabela 1**.

Figura 10. Curvas de tensão versus deformação para a avaliação das propriedades mecânicas das membranas obtidas sem terbinafina (a) e com terbinafina (b).

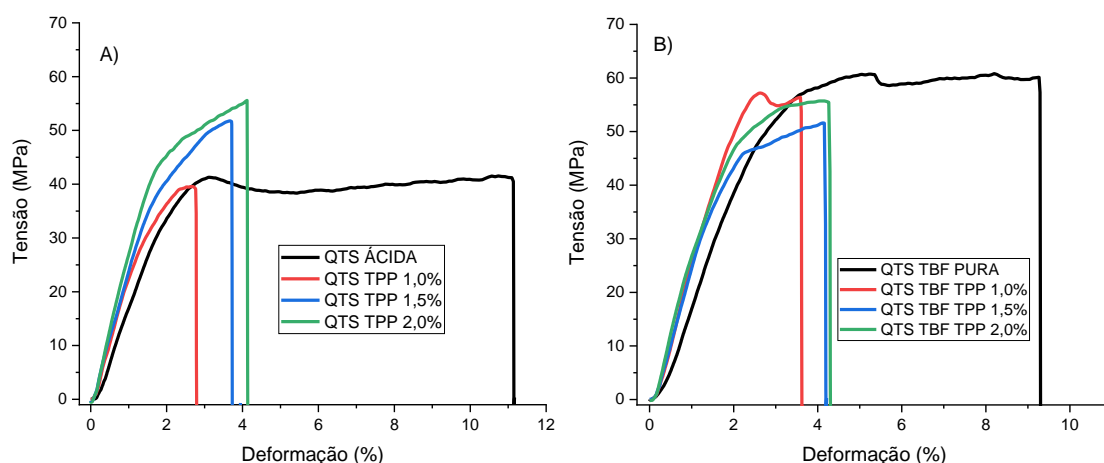


Tabela 4. - Propriedades mecânicas das membranas de quitosana pura, reticulada com TPP em diferentes porcentagens e com terbinafina. Determinados pela média das medidas realizadas em 5 corpos de prova.

Amostra	Espessura (mm) ^a	Tensão na Ruptura (MPa)	Deformação na ruptura (%)	Módulo de elastic. (MPa)
QTS Ácida	0,050 ± 0,008	36,43 ± 3,52	11,57 ± 2,22	1455 ± 159
QTS TPP 1,0%	0,037 ± 0,007	37,48 ± 6,59	2,86 ± 0,71	2125 ± 106
QTS TPP 1,5%	0,036 ± 0,005	46,68 ± 6,29	3,45 ± 1,00	2173 ± 183
QTS TPP 2,0%	0,050 ± 0,005	55,59 ± 8,35	3,69 ± 1,09	2671 ± 170
QTS TBF PURA	0,047 ± 0,003	61,75 ± 2,20	8,71 ± 3,47	2350 ± 170
QTS TBF TPP 1,0%	0,051 ± 0,008	48,92 ± 14,38	3,57 ± 1,22	2751 ± 291
QTS TBF TPP 1,5%	0,056 ± 0,006	57,66 ± 11,88	4,21 ± 0,78	2631 ± 293
QTS TBF TPP 2,0%	0,051 ± 0,001	49,90 ± 5,38	4,57 ± 0,90	2336 ± 167

^a determinado por medidas em 3 diferentes pontos ao longo dos filmes, n=5.

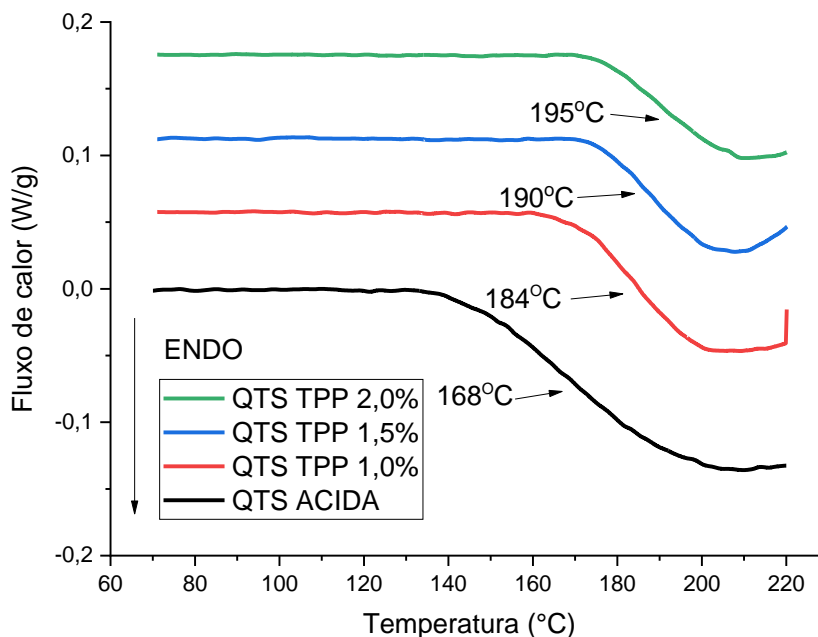
A partir dos valores apresentados na **Tabela 1**, verifica-se que as membranas de quitosana pura apresentaram um valor de tensão na ruptura (TR) de 36 MPa e da deformação máxima (E%) de 12% e apresentando módulo de elasticidade (ME) de 1455 Mpa. A medida que concentrações crescentes de TPP foram colocadas em contatos com as membranas, observa-se uma crescente tensão de ruptura resultando numa diminuição da elongação máxima, com consequente aumento no modulo de elasticidade (**Tabela 1**), sugerindo que o TPP atua como reticulante, formando interações iônicas inter e intramoleculares, restringindo a mobilidade da cadeia polimérica das membranas de quitosana. [32][37]

Quando a terbinafina é dispersa nas membranas, observa-se que a tensão de ruptura é aumentada, além de uma diminuição da elongação, com consequente aumento no módulo de elasticidade. Sugerindo que o fármaco esteja disperso na matriz da quitosana e, assim como o TPP, formando interações que limitem a mobilidade da cadeia polimérica e consequentemente, tornando a membrana mais rígida. Nas membranas contendo o fármaco e reticuladas com TPP, observa-se que a tensão na ruptura é diminuída em relação a membrana contendo apenas terbinafina, uma vez que a membrana é levemente intumescida quando o processo de reticulação ocorre, ocasionado numa redução das interações entre fármaco e quitosana. A deformação máxima (elongação) das membranas é diminuída e o módulo de elasticidade aumentados, indicando que a interação da TBF e do TPP com a quitosana deixam a membrana ainda mais rígida. ^[48]

5.5 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As propriedades mecânicas obtidas podem ser adicionalmente discutidas com a análise das propriedades térmicas usando a análise de DSC. Na **Figura 12** são apresentados os perfis de DSC, para a membrana de quitosana ácida e as membranas reticuladas com TPP, sem a adição do fármaco. As análises do comportamento térmico de todas as amostras foram realizadas utilizando a segunda corrida a fim de verificar a transição vítrea (T_g) do polímero e observar a influência da reticulação e da adição de terbinafina. Como base para a discussão dos resultados tem-se a T_g da membrana de quitosana ácida em torno de 168 °C. ^[49]

Figura 11. Termogramas obtidos por DSC (segunda corrida) para as membranas de quitosana ácida e reticuladas com TPP em diferentes concentrações sem a adição de terbinafina.



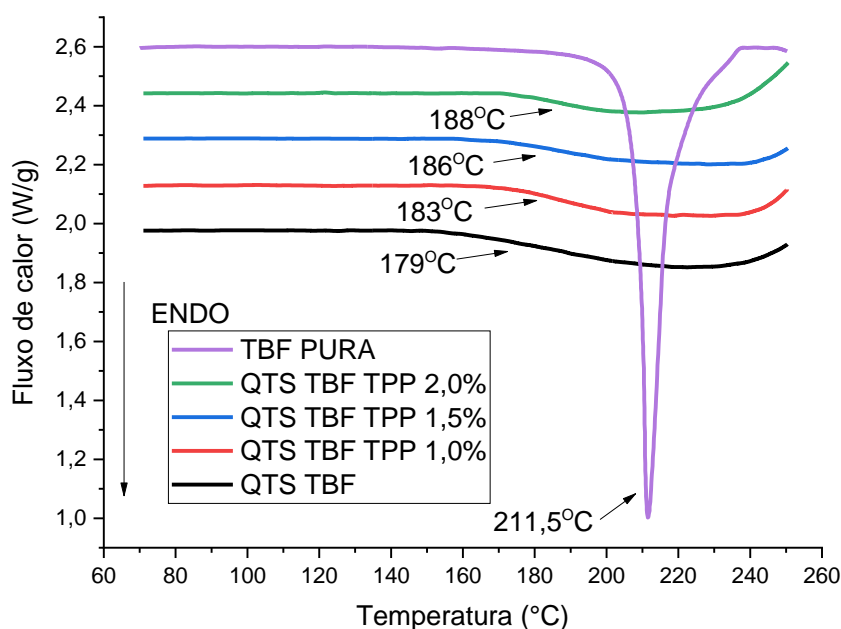
Observa-se na **Figura 11** que a Tg das membranas de quitosana quando reticulada é maior em comparação ao filme puro e que o aumento da quantidade de TPP utilizado. As membranas reticuladas apresentam Tg de 184, 190 e 195 °C com TPP 1,0, 1,5 e 2,0 %, respectivamente. Quando a solução de TPP é vertida sobre as membranas, favorece-se a interação eletrostática dos grupamentos -POO^- do tripolifosfato com os grupamentos -NH_3^+ da membrana de quitosana ácida. Estas interações levam a uma reticulação iônica da membrana e consequentemente a neutralização desta. Observa-se ainda na **Figura 11**, o fato de que a medida que a concentração de TPP é aumentada na solução, maior é a efetiva ligação por interações eletrostáticas, restringindo a mobilidade das cadeias de quitosana, levando a um aumento gradativo da Tg. ^{[39][50]}

Os resultados da adição de terbinafina nas Tg das membranas de quitosana estão apresentados na **Figura 12**. Nota-se que a terbinafina por ser um composto cristalino exibe em seu termograma um evento endotérmico na temperatura de 211,5 °C referente a sua fusão. Quando avaliamos os termogramas das membranas que contém o fármaco e foram reticuladas, não há evidências de que o fármaco está no seu estado cristalino, pois não há nenhum evento de fusão pronunciado nas

membranas. Desta forma sugere-se que ao ser incorporado à quitosana ocorre a obtenção da forma amorfa da TBF, que auxilia na sua solubilidade e na provável aplicação das membranas desenvolvidas.

Adicionalmente, na **Figura 12** observa-se que a membrana de quitosana contendo o fármaco sem a adição de TPP, tem a Tg, aumentada para 179°C, indicando que o fármaco ao se tornar amorfo interage com a matriz das membranas de quitosana deixando-a com menor mobilidade e desta forma mais rígido, corroborando com os dados de análise mecânica. A Tg das membranas contendo TBF e reticuladas, com TPP 1,0 % ocorre em 183°C, com TPP 1,5 % em 186°C, em 188 °C com TPP 2,0 %. De forma geral, as Tg das amostras com TBF diminuem em comparação com aquelas sem TBF, uma vez que quando a membrana é reticulada com a presença do fármaco, o volume livre entre as cadeias é maior, favorecendo a maior mobilidade destas com subsequente diminuição da Tg em comparação com as membranas reticuladas sem a presença de TBF. ^{[51][52]}

Figura 12. Termogramas obtidos por DSC para a terbinafina e para as membranas (segunda corrida) de quitosana ácida e reticuladas com TPP em diferentes concentrações contendo terbinafina.



Vale ressaltar, que mesmo observando pequenas porções do fármaco ainda cristalino nas microscopias ótica de luz polarizada, não foi evidenciado nenhum evento de fusão do fármaco nas membranas de quitosana onde este foi incorporado.

5.6 Determinação do ângulo de contato

Para avaliar uma das características físicas da superfície das membranas como a molhabilidade, esta foi submetida a análises de ângulo de contato usando como líquido a água. A **Figura 13** mostra as fotografias da análise de ângulo de contato da quitosana pura ácida e reticulada com e sem terbinafina, os dados obtidos pelo ensaio estão sintetizados na **Tabela 5**.

Figura 13. Imagens das gotas adquiridas durante os ensaios de ângulo de contato utilizando água como solvente para as membranas contendo (a) QTS PURA, (b) QTS TPP 1,0%, (c) QTS TPP 1,5%, (d) QTS TPP 2,0%, (e) QTS TBF PURA, (f) QTS TBF TPP 1,0%, (g) QTS TBF TPP 1,5% e (h) QTS TBF TPP 2,0%,

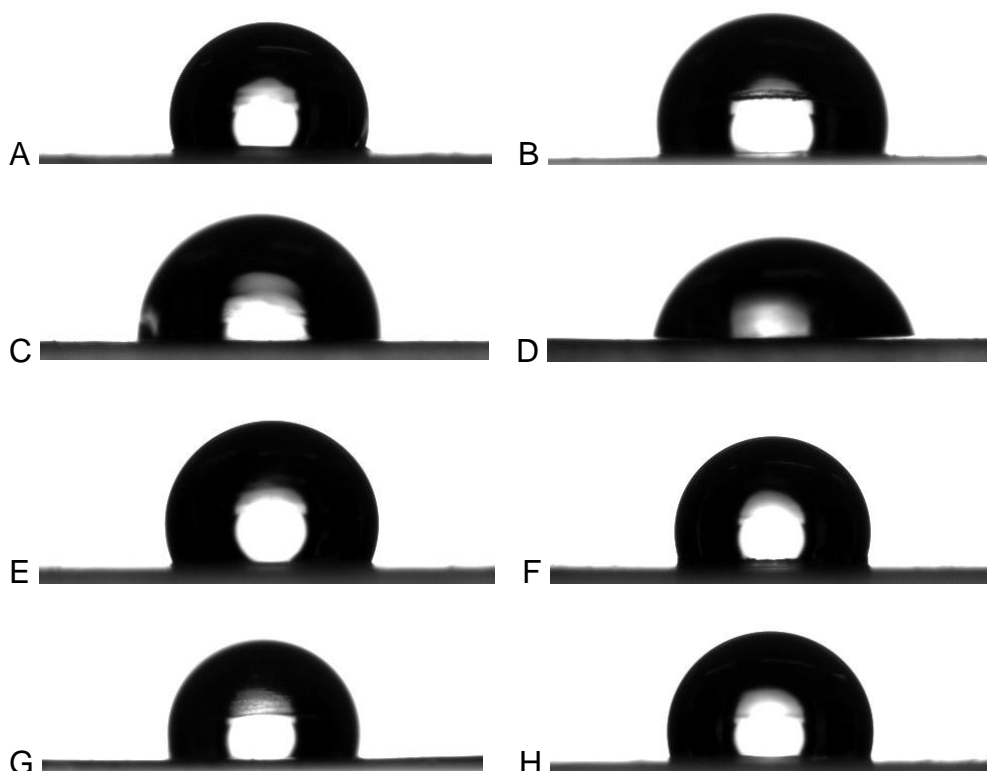


Tabela 6. Valores da média e desvio dos ângulos de contato ($^{\circ}$) para as diferentes membranas de quitosana obtidas a partir do ensaio da gota de água.

Amostra	Média do ângulo ($^{\circ}$)	Desvio padrão
QTS PURA	107,4	1,3
QTS TPP 1,0%	106,7	1,0

QTS TPP 1,5%	89,2	3,1
QTS TPP 2,0%	74,9	9,2
QTS TBF PURA	112,1	2,7
QTS TBF TPP 1,0%	106,8	0,9
QTS TBF TPP 1,5%	104,6	2,8
QTS TBF TPP 2,0%	90,7	6,0

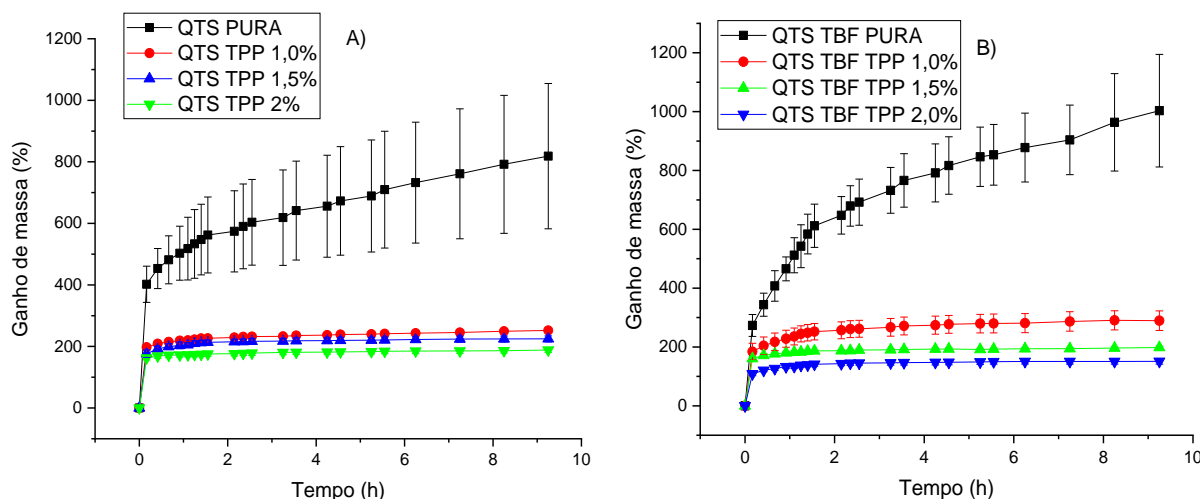
Em geral, superfícies que apresentam ângulos de contato $< 90^\circ$ são consideradas hidrofílicas, enquanto que $> 90^\circ$ são hidrofóbicas. De acordo com os dados relatados na **Tabela 7** pode ser observado o aumento da hidrofiliabilidade das membranas com a adição de reticulante. A membrana pura ácida mostrara um ângulo de $107,4^\circ$. Comparada à membrana pura, o ângulo de contato diminuiu com a adição de TPP 1,0 % e diminuindo ainda mais com o aumento da quantidade de TPP na membrana. ^{[37][39]}

As membranas de quitosana preparadas com a inserção do medicamento apresentaram aumento do ângulo de contato e consequente diminuição da hidrofiliabilidade interfacial se comparada às membranas sem TBF. Indicando que a adição compostos hidrofóbicos na matriz influencia expressivamente na molhabilidade do material. Em contra partida foi observado novamente a diminuição do ângulo de contato com a presença do reticulante TPP, sendo mais significativo com o aumento de sua concentração. Pela possível formação de poros que aumenta em quantidade de acordo com o aumento da concentração do reticulante, este fenômeno físico proporciona espaço livre na superfície para a entrada de moléculas de água aumentando a hidrofiliabilidade e diminuindo o ângulo de contato.

5.7 Grau de Intumescimento (%)

As características de capacidade de intumescimento é de grande importância para matéria de aplicação tópica, uma vez que a pele pode eliminar suor dentre outros líquidos. Portanto é necessário que a membrana aplicada a pele consiga absorver esses líquidos, de modo a deixar a pele “respirar”, evitando a proliferação ainda maior de microrganismos. ^[53] A **Figura 14** exibe os perfis de ganho de massa em função do tempo para as diferentes membranas a base de quitosana produzidas realizadas em tampão fosfato com pH 5,5.

Figura 14. Perfil de intumescimento das diferentes membranas de quitosana pura ácida e na presença de reticulante em diferentes concentrações (a) sem e (b) com terbinafina incorporada. Realizadas em tampão fosfato de pH 5,5.



A quitosana é um polímero natural hidrofílico, que quando colocado em soluções de pH próximas ou abaixo ao valor de seu pKa tende a absorver grande quantidade de água. É possível observar na **Figura 14 (a)** que a quitosana pura ácida apresenta ganho de massa próximo a 818 %, isso ocorre principalmente a presença dos grupamentos amins positivamente carregados da quitosana em pH baixo que causam repulsão eletrostática entre as cadeias poliméricas e elevam o volume livre que moléculas de água possam ocupar. ^[44]

A adição do reticulante TPP induz a aproximação das cadeias poliméricas da quitosana devido as cargas negativas presentes no TPP, isso faz com que o volume livre disponível às moléculas de água seja reduzida consideravelmente. Resultando num menor grau de ganho de massa pelas matrizes de quitosana. De fato, o grau de intumescimento das membranas de quitosana com TPP foram de 252, 224 e 188 % para as concentrações de 1,0, 1,5 e 2,0 % de reticulante após 9 h de análise. ^{[44][54]}

O mesmo comportamento é verificado quando incorporado o fármaco TBF às membranas de quitosana ácida e com quantidades crescentes de tripolifosfato.

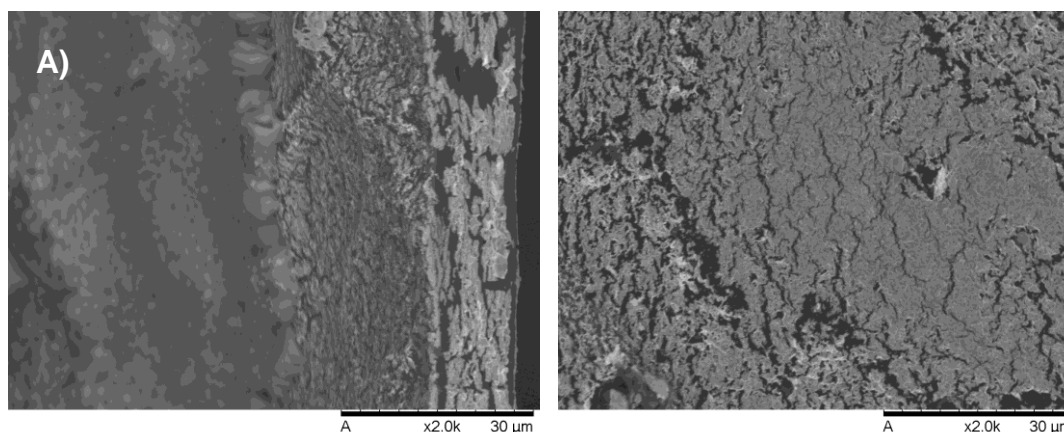
Obtendo-se valores de aproximadamente 1000, 290, 200 e 150 % para as membranas ácidas e com 1,0, 1,5 e 2,0 % de TPP, respectivamente ao final da análise. ^[44]

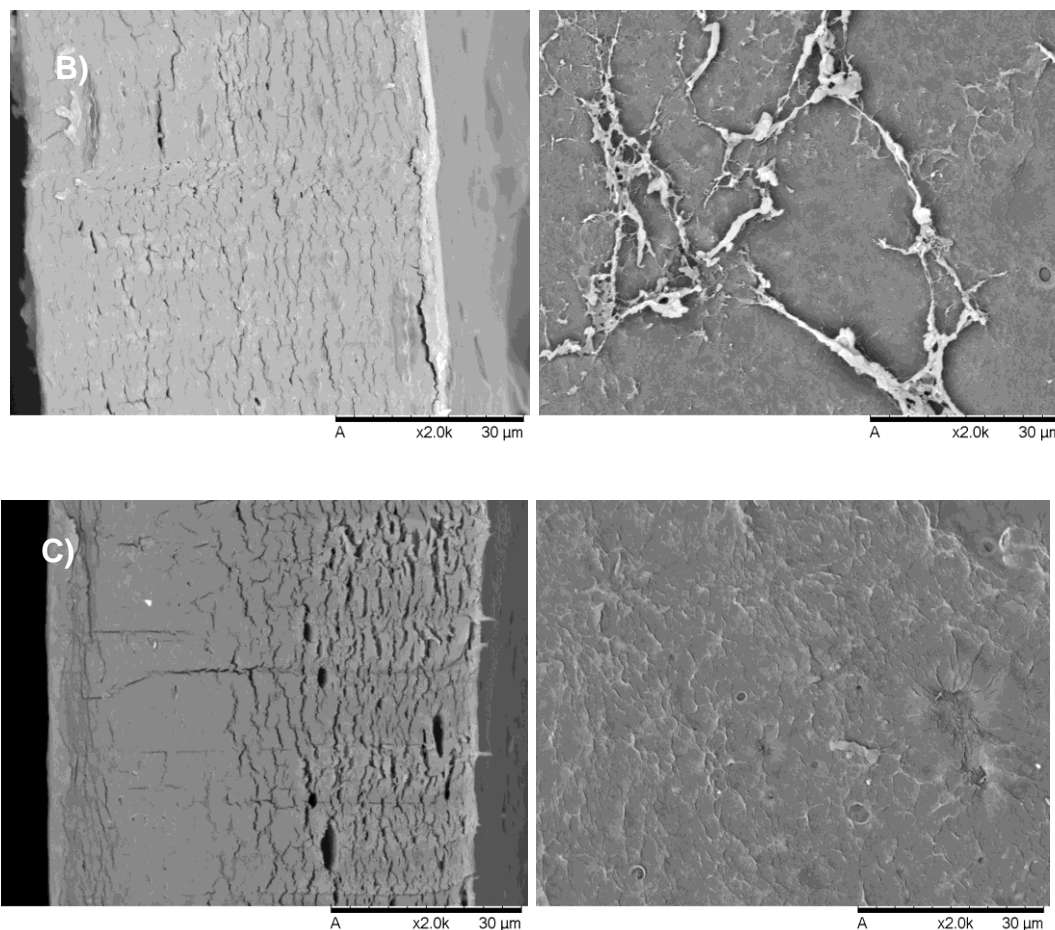
Desta forma, canais internos são gerados na matriz intumescidas permitem que princípios ativos incorporados à matriz sejam liberados.

5.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para a avaliação da morfologia interna (fratura) e superfície das membranas contendo apenas o fármaco e estas também estando reticuladas com TPP 1% e 2% foram analisadas por MEV. Analisando as imagens obtidas pode-se avaliar que a membrana contendo apenas o fármaco (**Figura 15 a**) tanto a fratura quanto a sua superfície apresentam estrutura dispersas com regiões mais escuras evidenciando ausência do fármaco. A imagem da fratura referente a membrana contendo fármaco e reticulada com TPP 1% (**Figura 15 b**) apresenta-se mais compacta sem muitas rachaduras. A sua superfície apresenta aglomerados na parte superior da amostra demonstrando que houve a reticulação desta. A micrografia da fratura referente a membrana com terbinafina e reticulante (**Figura 15 c**) apresenta-se menos compacta com mais rachaduras e evidência de porosidade aumentada devido a maior concentração de tripolifosfato. A superfície desta apresenta com maior rugosidade de forma generalizada e não apenas em focos específicos. ^[44]

Figura 15. Microscopia eletrônica de varredura das membranas de (a) QTS TBF, (b) QTS TBF TPP 1,0% e (c) QTS TBF TPP 2,0%, fratura (esquerda) e superfície da amostra (direita). As escalas inferiores direita indicam ampliação de 2000 x.

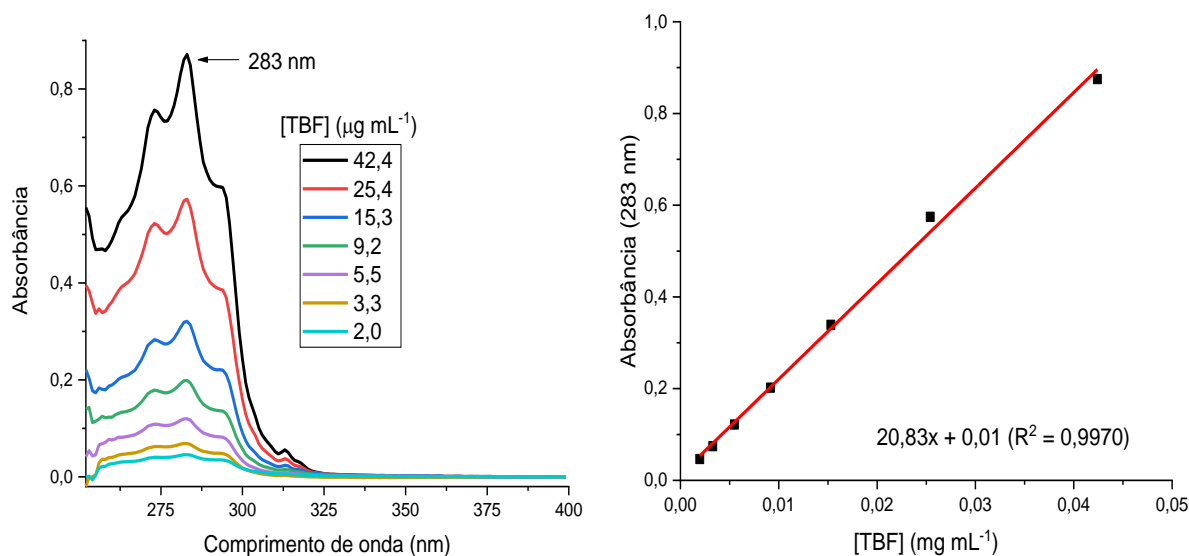




5.9 Perfis de liberação da TBF a partir de membranas reticuladas de quitosana

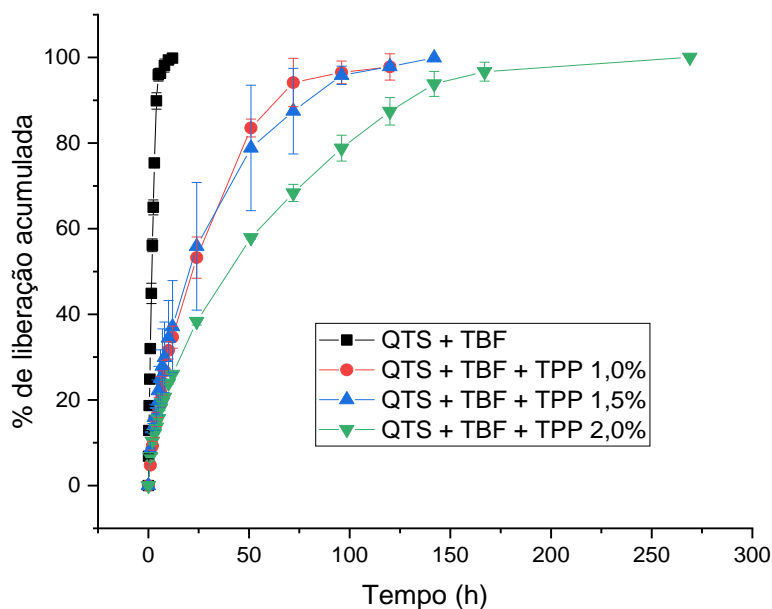
A quantificação da terbinafina nos experimentos de liberação foi obtida a partir da curva de calibração apresentada na **Figura 16 (b)**. Obtendo-se o coeficiente e absorção de $20,83 \pm 0,5 \text{ mL mg}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Figura 16. (a) Espectros de absorção da terbinafina ($2,0 - 42,4 \mu\text{g mL}^{-1}$) em solução aquosa contendo Tween 80 (0,5% m/V) e (b) curva de calibração utilizada para quantificar o fármaco durante o experimento de liberação em fluido simulado.



A **Figura 17**, mostra o perfil de liberação da terbinafina em tampão de pele simulada pH 5,5 a 37°C em condições sink (contendo surfactante Tween 80).

Figura 17. Perfis de liberação da terbinafina contida nas membranas de quitosana ácida e reticulada com TPP em diferentes concentrações em solução tampão de pele simulada pH 5,5 a 37°C .



A partir da análise das curvas, pode-se observar que a liberação da TBF, em tampão de pele simulado pH 5,5, ocorre de maneira rápida nas primeiras 6h para a membrana que não contém reticulante e sua liberação é findada no período total de 12h de análise. Esse comportamento é devido ao fato que a membrana de quitosana liberar mais facilmente o fármaco, pois seu intumescimento ocorre de forma mais rápida, permitindo a difusão do fármaco entre as cadeias do polímero para a solução tampão. [44] Na medida em que a concentração de TPP na membrana é aumentada, maior a eficácia da reticulação, consequentemente diminuição da capacidade de intumescimento da matriz e, tendo-se como resultado uma liberação mais lenta em comparação com a não reticulada devido a maior dificuldade de difusão da TBF à partir da matriz polimérica. [44] [54]

Para obter uma visão sobre o mecanismo de liberação do cloridrato de terbinafina a partir das diferentes membranas produzidas, os dados apresentados na **Figura 17** foram examinados usando diferentes modelos cinéticos. Esta modelagem matemática da cinética de liberação do cloridrato de terbinafina é uma ferramenta para obter informações sobre os mecanismos de transporte de massa que estão envolvidos nestes sistemas. Os dados de liberação cumulativa foram ajustados aos modelos cinéticos de ordem zero (Equação 2) primeira ordem (Equação 3), Higuchi (Equação 4) e Korsmeyer-Peppas (Equação 5).

$$Q = k_0 t \quad \text{(Equação 2)}$$

$$\ln Q = \ln Q_0 - k_1 t \quad \text{(Equação 3)}$$

$$Q = k_H t^{1/2} \quad \text{(Equação 4)}$$

$$\log \left(\frac{Q_t}{Q_\infty} \right) = \log k_{KP} + n \log t \quad \text{(Equação 5)}$$

Onde, Q é a quantidade de cloridrato de terbinafina liberado no tempo t (h), Q_0 é a quantidade de cloridrato de terbinafina contido nas membranas, Q_∞ é a quantidade de cloridrato de terbinafina liberado no equilíbrio e k (k_0 , k_1 , k_H e k_{kp}) são as constantes cinéticas para cada modelo. O parâmetro n (adimensional) é o expoente de liberação do modelo Korsmeyer-Peppas, que está ligado ao modelo de mecanismo de liberação do agente antifúngico. De acordo com os critérios para cinética de liberação de solutos a partir de membranas, um valor de coeficiente difusional $n \leq 0,5$, indica que o mecanismo de liberação observado é o de difusão do

soluto através de camadas da matriz, também conhecido como mecanismo de liberação Fickiano. Um valor de $n = 1,0$ indica que a liberação do soluto é controlada apenas pelo intumescimento/relaxação da cadeia polimérica, isto é, independente do tempo, mecanismo este, também conhecido como “Caso II” de transporte. Quando $0,5 < n < 1,0$, obtém-se um transporte não-Fickiano ou anômalo, onde ocorre a superposição dos dois fenômenos, sendo que a liberação é controlada pela difusão e intumescimento, simultaneamente. Para valores de $n > 1,0$ têm-se um Super Caso II de transporte, no qual ocorre a contribuição simultânea de processos como difusão, intumescimento, relaxação e erosão da matriz polimérica. ^{[55][56]}

Tabela 3. Parâmetros cinéticos para a liberação da terbinafina em pH 5,5

Modelo	Parâmetro	QTS TBF PURA	QTS TBF TPP 1,0%	QTS TBF TPP 1,5%	QTS TBF TPP 2,0%
Ordem zero	k_0 (mg.h ⁻¹)	0,806	0,85	0,696	0,428
	R ²	0,8510	0,9362	0,9316	0,9157
Primeira Ordem	k_1 (h ⁻¹)	0,4267	0,0338	0,0336	0,0157
	R ²	0,9945	0,9981	0,9954	0,9942
Higuchi	k_H (mg.h ^{1/2})	0,346	0,0997	0,0873	0,0676
	R ²	0,9249	0,9843	0,9855	0,9808
Korsmeyer- Peppas	K_{KP}	1,499	0,728	0,927	0,825
	n	0,83	0,76	0,60	0,54
	R ²	0,999	0,995	0,999	0,999

Após a consideração dos valores de R², verificou-se que o modelo de Korsmeyer-Peppas ajusta melhor os dados cinéticos para a liberação de cloridrato de terbinafina a partir das membranas desenvolvidas. A partir do modelo proposto, observa-se que dois estágios geralmente regulam a liberação do agente antifúngico a partir da membrana. O primeiro estágio é onde ocorre o início do intumescimento da matriz polimérica sendo observado o “efeito burst”, este associado à solubilização rápida no meio de liberação do agente ativo livre presente na superfície do (primeiras horas da liberação). Posteriormente, com a completa relaxação e intumescimento da matriz polimérica, ocorre a difusão do agente ativo presente nas membranas. ^[57]

A partir da análise dos expoentes difusionais (n), do mecanismo proposto, observa-se que todos encontram-se entre $0,5 < n < 1,0$, caracterizando o mecanismo chamado de transporte não-Fickiano ou anômalo. Neste mecanismo há superposição dos dois fenômenos, intumescimento e difusão, o que é comprovado pelos dados experimentais obtidos. Para uma possível aplicação em pele este resultado é favorável, uma vez que a matriz intumesceria na superfície da pele, favorecendo a liberação tópica e localizada via difusão. Outro ponto a ser destacado é o fato de que ao intumescer, a membrana fica com características adesivas, o que facilitaria sua afinidade a superfície da pele.

Desta maneira, pode-se concluir que a adição de reticulante, não apenas retarda a liberação do fármaco como também modifica o mecanismo de liberação deste à partir da matriz polimérica. ^[54]

6. CONCLUSÃO

A preparação das membranas a base de quitosana utilizando a técnica de evaporação de solvente (*casting*) para incorporação do cloridrato de terbinafina para posterior reticulação em concentrações 1,0, 1,5 e 2,0% foi obtida de forma satisfatória. Isso se deve a favorável interação da quitosana via grupos aminos protonados disponíveis interagindo com grupamentos fosfato negativamente carregados, formando redes de reticulação nas membranas.

De acordo com as imagens de microscopia ótica foi perceptível mudanças na estrutura superficial das amostras com aumento de rugosidade tanto para as membranas com e sem terbinafina, isso decorrente da presença do TPP.

Os espectros de FTIR-ATR mostraram bandas características 1555 cm^{-1} referentes aos grupamentos -NH_3^+ da quitosana não reticulada e em 1064 cm^{-1} e $\sim 890\text{ cm}^{-1}$, referentes as vibrações do grupo PO_3^- e o estiramento da ligação P-O-P, respectivamente. Para o espectro do cloridrato de terbinafina foi observado banda características como a de estiramento C-N que possui o valor de 1135 cm^{-1} . Os espectros contendo terbinafina reticuladas não apresentaram os picos referentes ao medicamento, pois este não se encontrava em quantidade suficiente detectável para o aparelho além do cloridrato ficar na forma amorfa quando misturado na solução de quitosana.

Os ensaios mecânicos demostraram valores mais altos para a deformação na ruptura para as membranas com e sem TBF. E diminuição destes valores após a reticulação devido à redução da mobilidade das cadeias poliméricas o que também justifica o aumento do módulo de elasticidade com a incorporação do TPP.

As análises de DSC para as membranas com o fármaco e sem a presença deste apresentaram aumento da Tg com a incorporação do reticulante e aumento de suas concentrações o que comprova que houve uma reorganização e diminuição da mobilidade das cadeias poliméricas da quitosana.

O ensaio de ângulo de contato comprovou que houve uma diminuição do ângulo de contato quando ocorreu a reticulação das membranas com e sem terbinafina, isso devido a abertura dos poros na superfície das amostras permitindo assim a entrada de água.

A análise do perfil de intumescimento para as membranas teve o comportamento condizente com os outros ensaios, ou seja, apresentou maiores valores de intumescimento para membranas não reticuladas.

A liberação ocorreu de forma mais rápida para as membranas não reticuladas, enquanto as membranas com TPP apresentaram um controle maior da difusão do fármaco. O modelo cinético que melhor se enquadrou na liberação do fármaco foi o de Korsmeyer-Peppas. A partir da análise dos expoentes difusionais (n), do mecanismo proposto, observa-se que todos encontram-se entre $0,5 < n < 1,0$, caracterizando o mecanismo chamado de transporte não-Fickiano. Neste mecanismo há superposição dos dois fenômenos, intumescimento e difusão, o que é comprovado pelos dados experimentais obtidos.

O que se pode abstrair de todos os resultados experimentais que os filmes de quitosana contendo o fármaco utilizado e reticulados ionicamente com tripolifosfato de sódio apresentam características apropriadas para serem aplicados como via de liberação de medicamentos por via tópica.

7. REFERÊNCIAS

- [1] VENUS, M., WATERMAN, J., MCNAB, I. Basic physiology of the skin. **Surgery**, 29, 471-474, 2011.
- [2] BALASUBRAMANI, M., KUMAR, T, R., BABU, M. Skin substitutes: a review. **Burns**, 27, 534-544, 2001.
- [3] PAUL, W., SHARMA, C. The Anatomy and Functions of Skin. **Joernal Advances in Wound Healing Materials Science and Skin Engineering**, 25-34, 2015.
- [4] BOER, M., DUCHNIK, E., MALESZKA, R., MARCHLEWICZ, M. Structural and biophysical characteristics of human skin in maintaining proper epidermal barrier function. **Postepy Dermatologii i Alergologii**, 1-5, 2016.
- [5] GHORAI, S., BANIK, S, P., VERMA, D., CHOWDHURY, S., MUKHERJEE, S., KHOWALA, S. Fungal biotechnology in food and feed processing. **Food Res. Int.**, 42, 577-587, 2009.
- [6] KIM, S., CHO, S., YOUN, S., PARK, J., TAE, J., BAK, Y., YU, Y. Epidemiological Characterization of Skin Fungal Infections Between the Years 2006 and 2010 in Korea. **Osong Public Health and Research Perspectives**, 341-345, 2015.
- [7] M. AMEEN, Epidemiology of superficial fungal infections, **Clin. Dermatol.**, 28, 197-201, 2010.
- [8] DIAS, M. F. R. G., QUARESMA-SANTOS, M. V. P., BERNARDES-FILHO, F., AMORIM, A. G. da F., SCHECHTMAN, R. C., AZULAY, D. R., Update on therapy for superficial mycoses: review article part I. **An. Bras. Dermatol.**, 88, 764–774, 2013.
- [9] KUMINEK, G., SCHNEIDER, G., KLUPPEL, M., EDUARDO, C., CAMPOS, M., ALBERTO, G., JOÃO, A., LUCIA, S., GONC, S., Single crystal structure , solid state characterization and dissolution rate of terbinafine hydrochloride. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 79, 105-111, 2013.

- [10] HAY, R., Superficial fungal infections. **Medicine**, 45, 707-710, 2017.
- [11] <https://www.uspharmacist.com/article/cutaneous-fungal-infections/>, acesso em 16 de julho de 2018 .
- [12] BERMAN, J., Candida albicans. **Curr. Biol.**, 22, 620-622, 2012.
- [13] HAVLICKOVA, B., CZAICA, V. A., FREDRICH, M. Epidemiological trends in skin mycosis worldwide. **Mycosis**, 51, 2-15, 2008.
- [14] PEDROSA, A. F., LISBOA, C., RODRIGUES, A. G. Malassezia infections: A medical conundrum. **Journal of the American Academy of Dermatology**, 71, 170-176, 2014.
- [15] <https://patient.info/antifungal-medicines>, acesso em 16 de julho de 2018.
- [16] JAYA, K., MURALIDHARAN, S., DHANARAJ, S. A., Formulation and in-vitro Evaluation of Terbinafine HCL Transdermal Patches. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, 4, 1840-1843, 2012.
- [17] ÖZCAN, İ., ABAC, Ö., UZTAN, A. H., AKSU, B., BOYAC, H., GUNERI, T., ÖZER, Ö., Enhanced Topical Delivery of Terbinafine Hydrochloride with Chitosan Hydrogels. **AAPS PharmSciTech**, 10, 1024-1031, 2009.
- [18] ABDELSAMIE, S. M., KAMEL, A. O., SAMMOUR, O. A., IBRAHIM, S. M., European Journal of Pharmaceutical Sciences Terbinafine hydrochloride nanovesicular gel: In vitro characterization , ex vivo permeation and clinical investigation. **PHASCI**, 88, 91-100, 2016.
- [19] KANAKAPURA, B., PENMATSA, V. K., Analytical methods for determination of terbinafine hydrochloride in pharmaceuticals and biological materials. **J. Pharm. Anal.**, 6, 137-149, 2016.
- [20] TAGLIARI M. P., KUMINEK G., BORGMANN, S. H. M., BERTOL, C. D., CARDOSO, S. G., TERBINAFINE: OPTIMIZATION OF A LC METHOD FOR QUANTITATIVE ANALYSIS IN PHARMACEUTICAL FORMULATIONS AND ITS APPLICATION FOR A TABLET DISSOLUTION TEST. **Quim. Nova**, 33,

1790-1793, 2010.

- [21] BALFOUR, J. A., FAULDS, D., Terbinafine. A Review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Potential in Superficial Mycoses. **Drugs**, 43, 259-284, 1992.
- [22] LEYDEN, J., Pharmacokinetics and pharmacology of terbinafine and itraconazole. **Journal of the American Academy of Dermatology**, 38, 42-47, 1998.
- [23] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1549008>, acesso em 31 de janeiro de 2019.
- [24] L. Alcazar-fuoli, L., Mellado, E., Ergosterol biosynthesis in *Aspergillus fumigatus*: its relevance as an antifungal target and role in antifungal drug resistance. **Front. Microbiol.**, 3, 1-6, 2013.
- [25] RUCKENSTUHL, C., LANG, S., POSCHENEL, A., EINDENBERGER, A., BARAL, P. K., HAPALA, I., GRUBER, K., TURNOWSKY, F., Characterization of Squalene Epoxidase of *Saccharomyces cerevisiae* by Applying Terbinafine-Sensitive Variants. **ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY**, 51, 275-284, 2007.
- [26] YANG, H., TONG, J., LEE, C. W., HA, S., EOM, S. H., IM, Y. J., Structural mechanism of ergosterol regulation by fungal sterol transcription factor Upc2. **Nat. Commun.**, 6, 1-13, 2015.
- [27] SUETH-SANTIAGO, V., FRANKLIM, T. N., LOPES, N. D., LIMA, M. E. F., Artigo CYP51 : Uma Boa Ideia ? CYP51 : Uma Boa Ideia ?. **Rev Virtual Quim.**, 7, 539-575, 2015.
- [28] AHMED, S. M., IBRAHIM, M. A., SARHAN, H. A., AMIN, M. A., FORMULATION AND CHARACTERIZATION OF BIODEGRADABLE CHITOSAN FILMS FOR TOPICAL APPLICATION OF TERBINAFINE HCl. **Bulletin of Pharmaceutical Sciences**, 30, 111-129, 2007.
- [29] LIMA, M. S. P., FREIRE, M. S., FONSECA, J. L. C., PEREIRA, M. R., Chitosan

- membranes modified by contact with poly (acrylic acid). **Carbohydr. Res.**, 344, 1709-1715, 2009.
- [30] E. KHOR, E., YONG, L., Implantable applications of chitin and chitosan. **Biomaterials**, 24, 2339-2349, 2003.
- [31] CROISIER, F., JÉRÔME, C., Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. **Eur. Polym. J.**, 49, 780-792, 2013.
- [32] MARQUES, J. S., CHAGAS, J. A. O. D., FONSECA, J. L. C., PEREIRA, M. R., Comparing homogeneous and heterogeneous routes for ionic crosslinking of chitosan membranes. **REACT**, 103, 156-161, 2016.
- [33] PILLAI, C. K. S., PAUL, W., SHARMA, C. P., Chitin and chitosan polymers : Chemistry , solubility and fiber formation. **Progress in Polymer Science**, 34, 641-678, 2009.
- [34] DASH, M., CHIELLINI, F., OTTENBRITE, R. M., CHIELLINI, E. Chitosan - A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Prog. Polym. Sci.**, 36, 981-1014, 2011.
- [35] CAMPANA-FILHO, S. P., DE BRITTO, D., CURTII, E., ABREU, F. R., CARDOSO, M. B., BATTISTI, M. V., SIM, P. C., GOY, R. C., SIGNINII, R., LAVALL, R. L., Extração, estrutura e propriedades de α e β -quitina. **Quim. Nova**, 30, 644-650, 2007.
- [36] TAVARIA, F. K., COSTA, E. M., PINA-VAZ, I., CARVALHO, M. F., PINTADO, M. M., A quitosana como biomaterial odontológico: Estado da arte. **Rev. Bras. Eng. Biomed.**, 29, 110-120, 2013.
- [37] MA, Y., XIN, L., TAN, H., FAN, M., LI, J., JIA, Y., LING, Z., CHEN, Y., HU, X., Chitosan membrane dressings toughened by glycerol to load antibacterial drugs for wound healing. **Materials Science & Engineering C**, 81, 522-531, 2017.
- [38] JÓ, T., FILIPKOWSKA, U., SZYMCZYK, P., RODZIEWICZ, J., MIELCAREK, A., Effect of ionic and covalent crosslinking agents on properties of chitosan

beads and sorption effectiveness of Reactive Black 5 dye. **Reactive and Functional Polymers**, 114, 58-74, 2017.

- [39] GIERSEWSKA, M., OSTROWSKA-CZUBENKO, J., Chitosan-based membranes with different ionic crosslinking density for pharmaceutical and industrial applications. **Carbohydr. Polym.**, 153, 501-511, 2016.
- [40] LAUS, R., COSTA, T. G., SZPOGANICZ, B., FÁVERE, V. T., Adsorption and desorption of Cu (II), Cd (II) and Pb (II) ions using chitosan crosslinked with epichlorohydrin-triphosphate as the adsorbent. **Journal of Hazardous Materials**, 183, 233–241, 2010.
- [41] COSTA, C. N., TEIXEIRA, V. G., DELPECH, M. C., VIRGINIA, J., SOUZA, S., COSTA, M. A. S., Viscometric study of chitosan solutions in acetic acid / sodium acetate and acetic acid / sodium chloride. **Carbohydr. Polym.**, 133, 245-250, 2015.
- [42] DESBRIE, J., BRUGNEROTTO, J., LIZARDI, J., GOYCOOLEA, F. M., ARGU, W., An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. **Polymer**, 42, 2001.
- [43] ASTM D882-12, AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. 1-11, 2018.
- [44] TOMAZ, A. F., MARIA, S., DE CARVALHO, S., BARBOSA, R. C., Ionically Crosslinked Chitosan Membranes Used as Drug Carriers for Cancer Therapy Application. **Materials**, 11, 1-18, 2018.
- [45] IIZHAR, S. A., SYED, I. A., SATAR, R., ANSARI, S. A., In vitro assessment of pharmaceutical potential of ethosomes entrapped with terbinafine hydrochloride. **J. Adv. Res.**, 7, 453-461, 2016.
- [46] CUZZUCOLI, V., LUISA, M., PIOZZI, A. TARESCO, V., GARNETT, M., ARGENT, R. H., FRANCOLINI, I., European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics Intermolecular interaction and solid state characterization of abietic acid / chitosan solid dispersions possessing antimicrobial and

antioxidant properties. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, 125, 114-123, 2018.

- [47] LUPATINI, K. N., SCHAFFER, J. V., MACHADO, B., SILVA, E. S. DA., ELLENDERSEN, L. S. N., MUNIZ, G. I. B., FERRACIN, R. J., ALVES, H. J., Development of chitosan membranes for use in pem fuel cells. **Blucher Chemistry Proceedings**, 4, 1-14, 2016.
- [48] HISHAM, S. F., KASIM, S. H., MASTOR, A., SABRI, S. N. M., BAKAR, S. A., SHUALDI, W., NORDIN, M. N., RASHID, A. H. A., NOORSAL, K., Study of Covalent / Ionic Cross-Linked Modification on Physical and Mechanical Properties of Chitosan Film as Potential Material in Medical Application. **Applied Mechanics and Materials**, 815, 89-93, 2015.
- [49] SAKURAI, K., MAEGAWA, T., TAKAHASHI, T., Glass transition temperature of chitosan and miscibility of chitosan / poly (N-vinyl pyrrolidone) blends. **Polymer**, 41, 7051-7056, 2000.
- [50] NETO, C. G. T., GIACOMETTI, J. A., JOB, A. E., FERREIRA, F. C., FONSECA, J. L. C., PEREIRA, M. R., Thermal Analysis of Chitosan Based Networks. **Carbohydrate Polymers**, 62, 97-103, 2005.
- [51] DONG, Y., RUAN, Y., WANG, H., ZHAO, Y., Bi, D., Studies on Glass Transition Temperature of Chitosan with Four Techniques. **Applied Polymer**, 5, 1-6, 2004.
- [52] LARBI-BOUAMRANE, O., BAL, Y., ALIOUCHE, D., COTE, G., CHAGNES, A., Preparação e caracterização de microcápsulas de quitosana reticulada para administração controlada de oxitetraciclina. **Indian Journal of pharmaceutical sciences**, 78, 715-724, 2016.
- [53] KAMOUN, E. A., KENAWY, E. S., CHEN, X., A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications : PVA-based hydrogel dressings. **J. Adv. Res.**, 8, 217-233, 2017.
- [54] DESAI, K. G. H., PARK, H. J., Preparation and Characterization of Drug-

Loaded Chitosan–Tripolyphosphate Microspheres by Spray Drying. **DRUG DEVELOPMENT RESEARCH**, 64, 114-128, 2005.

- [55] SIEPMANN, J., N. A. PEPPAS, N. A., Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). **Advanced Drug Delivery Reviews**, 48, 139–157, 2001.
- [56] RITGER, P. L., PEPPAS, N. A., A SIMPLE EQUATION FOR DESCRIPTION OF SOLUTE RELEASE. **Journal of Controlled Release**, 5, 23-36, 1987.
- [57] BAZZO, G. C., LEMOS-SENNA, E. GONÇALVES, M. C., PIRES, A. T. N., Effect of Preparation Conditions on Morphology , Drug Content and Release Profiles of Poly(hydroxybutyrate) Microparticles Containing Piroxicam. **J. Braz. Chem. Soc.**, 19, 914-921, 2008.